

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1932-1933 N° 3

Les Formes Non Acido-Résistantes du Bacille de la Tuberculose

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 4 Novembre 1932

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre COSTES

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Ancien Externe des Hôpitaux de Toulouse

Diplômé de Bactériologie

Né le 13 Juin 1908 à TOULOUSE (Hte-Garonne)



LYON

BOSC Frères, M. et L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

1932

LES FORMES NON ACIDO-RÉSISTANTES
DU BACILLE DE LA TUBERCULOSE

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1932-1933 N° 3

Les Formes Non Acido-Résistantes du Bacille de la Tuberculose

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 4 Novembre 1932

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre COSTES

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Ancien Externe des Hôpitaux de Toulouse

Diplômé de Bactériologie

Né le 13 Juin 1908 à TOULOUSE (Hte-Garonne)



LYON

BOSC Frères, M. et L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

1932

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ
Doyen	M. J. LEPINE
Assesseur	M. X...

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. CAZENEUVE, ROQUE, LANNOIS, HUGOUNENQ, ROCHET, BARRAL, ROLLET.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. PIC
Cliniques chirurgicales	PAVIOT
Clinique obstétricale et Accouchements	TIXIER
Clinique ophtalmologique	BERARD
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	VORON
Clinique neurologique et psychiatrique	X... (BONNET, agrégé, chargé de cours
Clinique des maladies des enfants	NICOLAS
Clinique des maladies des femmes	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURIQUAND
Clinique des maladies des voies urinaires	VILLARD
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie	COLLET
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	GAYET
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	NOVE-JOSSERAND
Chimie biologique et médicale	COURMONT
Chimie organique et Toxicologie	CLUZET
Matière médicale et Botanique	FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	MOREL
Anatomie	MANCEAU
Histologie	GUIART
Physiologie	LATARJET
Pathologie externe	POLICARD
Pathologie interne	DOYON
Pathologie et Thérapeutique générales	LERICHE
Anatomie pathologique	FROMENT
Chirurgie opératoire	CADE
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie	FAVRE
Médecine légale	TATEL
Hygiène	ARLOING (F.)
Thérapeutique	Etiemme MARTIN
Pharmacie et Pharmacologie	ROCHAIX
Hydrologie thérapeutique et climatologie	SAVY
	LEULIER
	PIERY

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Propédeutique de gynécologie	MM. CONDAMIN
Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale	THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'Embryologie	NOEL

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Chirurgie expérimentale	MM. TAVERNIER
Stomatologie	PONT

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	DUFOURT	DECHAUME	MORENAS
RHENTER	DEVIC	BERNHEIM	REBATTU Ch.
MAZEL	GABRIELLE	POLLOSSON	REVOL Ch.
SANTY	MARTIN (Joseph)	CHAMBON	ENSELME Ch.
CHALIER (André)	ROCHET (Ph.)	CIBERT	SEDALLIAN Ch.
CHALIER (Joseph)	WERTHEIMER	EPARVIER	
DUMAS	GATE	GUILLEMINET	



EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. ARLOING, président; DUFOURT, assesseur;
MORÉNAS et SÉDALLIAN

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MES CHERS DISPARUS

A MA GRAND-MÈRE

A MES PARENTS

A MES BEAUX-PARENTS

A MA FEMME

A MA FILLE

A MON FRÈRE

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. ARLOING

Chevalier de la Légion d'Honneur

*Professeur de Médecine Expérimentale et de Bactériologie
à la Faculté de Médecine de Lyon*

Il nous a inspiré le sujet de
cette thèse et nous a fait le grand
honneur de la présider.

Nous le prions de bien vouloir
trouver ici toute notre reconnais-
sance.

A MON JURY DE THÈSE

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL LAFFORGUE
*Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine
de Toulouse*
Directeur du Service de Santé de la XVII^e Région

A certaines heures difficiles, il
nous a témoigné toute sa bienveil-
lance.

Nous ne l'avons pas oublié et
lui exprimons toute notre grati-
tude.

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE L'HÔPITAL MILITAIRE DE TOULOUSE

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE LYON
ET DE L'HÔPITAL MILITAIRE DES GENETTES



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Avant-Propos

Il nous est agréable, au seuil de ce travail, de témoigner notre reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont aidé à sa réalisation.

Notre gratitude va tout d'abord à notre Président de thèse, M. le Professeur F. Arloing, qui nous a inspiré le sujet de ce travail. Nouveau venu à la Faculté de Lyon, il nous a accueilli dans son laboratoire avec son habituelle bienveillance et nous a guidé dans nos travaux. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance.

Nous remercions également M. le Professeur agrégé Dufourt et M. le Docteur Lucien Thévenot, qui ne nous ont point ménagé leurs conseils chaque fois que nous nous sommes adressé à eux.

Nous tenons aussi à témoigner notre gratitude à M. le Professeur Rispal, professeur de Bactériologie à la Faculté de Médecine de Toulouse, ainsi qu'à M. le Professeur Jean Tapie, professeur d'Anatomie pathologique à la même Faculté, pour l'amabilité avec laquelle ils nous ont offert l'appoint de leur expérience.

Ils furent nos premiers maîtres en bactériologie et en clinique médicale : nous les remercions ici de leur enseignement.

Nous sommes enfin particulièrement heureux de remercier le Docteur A.-R. Muller, assistant de l'Institut National Ophtalmologique de Madrid et de lui témoigner toute notre amitié pour les importants travaux de traduction qu'il nous a faits et qui ont contribué pour une grande part à l'édification de ce travail.

LES FORMES NON ACIDO-RÉSISTANTES DU BACILLE DE LA TUBERCULOSE

Introduction

Dès la découverte de l'agent pathogène de la Tuberculose, les phthisiologues furent frappés de constater l'absence de ce microorganisme dans des lésions dont pourtant la nature tuberculeuse ne faisait aucun doute; et nul n'ignore, à l'heure actuelle, la rareté ou même l'absence de bacilles de Koch dans le pus des abcès froids, les granulations miliaires, le liquide de péritonite ou de méningite tuberculeuse, l'urine émise au cours des tuberculoses rénales.

C'est cette absence seule qui s'est longtemps opposée à ce que soient définitivement regardées comme étant de nature tuberculeuse, certaines affections telles que le lupus ou l'hydrocèle dite essentielle et qui permet de douter encore, pour d'autres maladies, comme l'érythème noueux.

Ces constatations posèrent naturellement la question de l'existence possible à côté du bacille typique décrit en 1882 par Koch, bacille dont l'acido-résistance est la caractéristique essentielle, d'un autre agent pathogène qui put expliquer la production de tuber-

culose par l'inoculation de substances non bacillifères: agent pathogène que la coloration classique par le Ziehl serait impuissante à révéler.

C'est ainsi que fut amorcée la découverte des formes non acido-résistantes du bacille de la Tuberculose que plus tard devait compléter la notion de virus tuberculeux filtrant.

Ce sont ces formes dépourvues de l'acido-résistance que nous nous sommes proposé d'étudier dans ce modeste travail, fruit de deux années d'expériences au Laboratoire de Bactériologie.

La question des formes non acido-résistantes du bacille de la Tuberculose a soulevé quantité de controverses que notre peu d'expérience ne nous permet pas de résoudre. Nous avons uniquement voulu, sous la bienveillante direction de notre Maître, M. le Professeur F. Arloing, nous faire une opinion personnelle sur ce sujet et c'est le résultat de nos travaux que l'on trouvera ici.

Dès maintenant, nous tenons à préciser que nous n'envisagerons pas dans cette étude les formes géantes du bacille tuberculeux dont la perte de l'acido-résistance n'est qu'une des particularités.

Rares en vie parasitaire, elles se séparent en outre, des formes non acido-résistantes du bacille tuberculeux par des détails de coloration qui leur confèrent une identité bien particulière, ce qui nous incite à ne les point envisager dans notre ouvrage pour le consacrer uniquement aux formes courantes du bacille tuberculeux ayant perdu l'acido-résistance.

Notre étude comprendra deux parties : nous consacra-

crerons une première partie à une revision impartiale des conditions dans lesquelles les différents auteurs ont rencontré ces formes particulières, soit formes bacillaires, soit granules non acido-résistantes de Much. La deuxième partie relatara nos expériences personnelles et le résultat de nos recherches.

Nous nous efforcerons enfin de tirer de nos observations propres une conclusion pratique au point de vue du diagnostic bactériologique de la tuberculose.

Historique

Sans tomber dans le paradoxe, on peut dire que l'étude, ou du moins, la notion des formes non acido-résistantes du bacille de la tuberculose remonte à l'époque même de sa découverte.

Nombreux sont les auteurs qui, depuis 1882, ont étudié ces formes et, comme nous le verrons au cours de ce travail, rarement les résultats qu'ils ont obtenus sont en concordance parfaite, et la question n'est pas encore nettement définie, du moins en ce qui concerne les conditions d'observation de ces bacilles, leur signification ou leur évolution. Certains auteurs leur déniaient même toute existence et les considéraient comme de simples artefacts.

Peu après la découverte de Koch, cette question fut soulevée par Malassez et Vignal.

En 1883, ces auteurs avec plus de précision décrivaient des granulations non acido-résistantes, issues de masses zoogléliques qui pouvaient se transformer ultérieurement en bacilles acido-résistants.

Cornil et Babès, en 1885, observent qu'à un moment donné de leur existence, la majeure partie des corps bacillaires ne se colorent plus en rouge et que, seule, une extrémité, ou les deux, se colorent en rose vif,

tranchant sur le reste du bacille qui se colore en bleu violet.

C'est au moment de la découverte des granulations de Babès, que Much décrira, lui aussi, la constatation de la perte de l'acido-résistance dans la plus grande partie du corps bacillaire.

En 1898, S. Arloing et P. Courmont obtiennent leurs cultures homogènes et notent que l'acido-résistance n'apparaît qu'au bout d'un certain temps, les bacilles étant, au début de la culture, exclusivement gram-
mophiles.

Marmorek, en 1900, attire l'attention sur ces formes et, le premier, leur assigne une place dans la vie du bacille en les considérant comme des formes jeunes ou en dégénérescence.

La question en était là lorsqu'en 1901 le Docteur Ferran, de Barcelone, recherchant les causes d'insuccès de la prophylaxie vaccinale de la tuberculose ainsi que de sa sérothérapie, les attribue à l'insuffisance des connaissances sur le bacille de Koch.

Pour lui, le bacille acido-résistant n'est pas le seul agent de la tuberculose ; à côté de lui, et même avant lui, existe un autre bacille qu'il appelle « Phtisiogène » et qui ne possède pas l'acido-résistance. Par contre, il ne prendrait pas le Gram.

Ferran tient ce bacille pour un colibacille véritable dont il aurait d'ailleurs toutes les fonctions biologiques. Par passages successifs, il aurait pu transformer le colibacille ordinaire en bacille de Koch acido-résistant.

Il ne nous semble pas qu'un tel sujet puisse entrer

dans le cadre de cette étude, nous devons dire, d'ailleurs, qu'il ne nous est point arrivé de rencontrer un semblable bacille au cours de nos examens et nous ne citons les observations de Ferran que pour mémoire.

Dès leur publication, les résultats de Ferran furent attaqués par un grand nombre d'auteurs qui se refusaient à admettre l'introduction d'un bacille si proche du coli, ou le coli lui-même, dans le cycle du bacille de Koch.

Les étonnantes déclarations de Ferran n'éclairaient guère la question des formes non acido-résistantes que Wrede signale à son tour en 1902.

Mais, en 1908, elle se précise par les découvertes de Much.

Elles eurent pour point de départ une hypothèse de Von Behring qui pensait qu'il doit exister une autre forme de bacille tuberculeux qui échappe à nos moyen d'investigation, étant donné l'impuissance des examens de laboratoire à la déceler dans des produits dont l'inoculation prouve la nature tuberculeuse.

Much cherchant le bacille dans des tubercules miliaires ne le découvre pas par la méthode classique de Ziehl-Nelsen mais, après une coloration de Gram spéciale, il décrit la multiplicité de formes que nous étudierons plus loin et les considère comme étant des aspects nouveaux du bacille de Koch.

La question rebondit alors. En 1919, Brückner distingue nettement bacilles et granules, les uns et les autres dépourvus d'acido-résistance, ainsi que des bacilles constitués par un chapelet de granules.

Enfin, en 1910, le Docteur A. Fontès, de Rio-de-Ja-

neiro, signale, dans sa retentissante communication sur les formes filtrantes, l'apparition, dans des frot-tis de ganglions de cobayes inoculés avec des filtrats, de granules non acido-résistants.

Jusqu'en 1923, les formes non acido-résistantes cessent d'être à l'ordre du jour.

Mais en 1923, Ferran pose nettement ses opinions en la matière et décrit ses bactéries, α , ϵ , γ , δ .

Depuis lors, la question a été reprise sous toutes ses formes et parmi les nombreux auteurs qui l'ont étudiée, nous ne citerons, comme étant les plus récents, que les travaux de Vaudremer, Reenstierna, de notre Maître M. le Professeur F. Arloing et M. le Professeur Agrégé Dufourt, de M. et Mme Hollande, Morton C. Kahn, Bezançon et Philibert, de Calmette enfin, qui, en 1930, classa les formes non acido-résistantes du bacille tuberculeux et les considéra comme des étapes intermédiaires de la régénération du bâtonnet acido-résistant à partir de l'ultra-virus.

En étudiant ces différentes formes, on voit combien incertaines sont leur classification, leur situation dans le cycle du bacille et même leur découverte positive à proprement parler.

C'est pourquoi, sur les conseils de M. le Professeur F. Arloing, nous avons dirigé dans ce sens nos recherches, afin de nous faire, sur ce sujet, une opinion dont le seul mérite sera d'être basée sur des expériences personnelles.

CHAPITRE PREMIER

Conditions d'observation des formes non acido-résistantes du bacille tuberculeux

Dans ce premier chapitre, il n'est pas entré dans nos desseins d'étudier les bacilles et granules non acido-résistants, parallèlement avec l'ordre d'apparition de ceux-ci dans le cycle de l'agent causal de la tuberculose.

Nous avons suivi plutôt l'ordre chronologique de leur découverte réservant, pour un chapitre ultérieur, l'étude de l'évolution de ces formes.

1° Méthodes de coloration

Nombreuses ont été les colorations employées par les auteurs pour révéler les formes atypiques du bacille de Koch.

Nous n'envisagerons que celles qui, vraiment, mettent en évidence des aspects autres que ceux que révèlent les méthodes classiques.

La plus ancienne est celle de SPENGLER :

a) Première coloration par le procédé de Kühne (fuchsine phéniquée, décoloration par l'aniline chlorhydrique et l'alcool absolu).

b) Laver à l'eau et traiter par l'alcool picriqué :

Alcool à 60° 40 cm³

Solution saturée d'acide picrique... 60 cm³

quelques secondes.

c) Laver trois fois à l'alcool à 60°. Décolorer par l'acide sulfurique à 15 %. Laver à nouveau à l'alcool picriqué.

Cette coloration ne présente guère d'avantages sur la méthode de Ziehl; elle peut montrer des bacilles en nombre légèrement plus grand. Mais cela est plutôt dû au fond très clair de la préparation qui fait ressortir plus vivement les bacilles acido-résistants.

MÉTHODE DE MUCH

a) Colorer à 37° pendant 24 heures avec la solution:

Violet de méthyle, sol. alc. sat..... 10 cm³

Acide phénique à 2 % 100 cm³

b) Traiter par la solution de Gram pendant 24 heures.

c) Faire agir successivement: acide nitrique à 5 %, une minute. — Acide chlorhydrique à 3 %, 10 secondes. — Alcool-acétone jusqu'à décoloration complète.

d) Recoloration du fond à l'éosine ou au Ziehl dilué.

On voit que cette méthode est un Gram prolongé.

MÉTHODE DE FONTÈS

Combinaison du Ziehl et du Gram spécialement pour mettre en évidence les granulations.

- a) Fuch sine phéniquée à chaud, 2 minutes.
- b) Après lavage à l'eau, Kristall-Violet, 2 minutes.
- c) Sans lavage, traiter par le Gram, 5 minutes en trois fois.
- d) Décolorer par l'alcool-acétone, laver.
- e) Recolorer par solution aqueuse de bleu de méthylène.

Ces deux dernières méthodes présentent de réels avantages, quant à la mise en évidence de formes non acido-résistantes. Nous y reviendrons plus longuement dans les chapitres ultérieurs.

2° Morphologie générale

Les auteurs ont décrit quantité de formes. C'est sur des bacilles que l'on constata tout d'abord la perte de l'acido-résistance. Puis, les investigations dirigées dans ce sens en firent découvrir une multiplicité: Bacilles de structure apparemment homogène, bacilles granuleux, granules isolés. Ces granules, en chapelet de 3 ou 4, prennent volontiers un aspect bacillaire. Par l'accouplement de deux granules on obtient des diplocoques, réguliers ou irréguliers, lorsqu'un granule est plus gros que l'autre.

A notre connaissance, il n'a pas été signalé de formes spirillaires, et l'on peut dire qu'à l'exception de

ce dernier aspect on rencontre le bacille de Koch sous les formes les plus différentes.

Cependant bâtonnets et granules sont certainement les plus nombreux. C'est pourquoi nous n'avons relevé dans la littérature que les observations se rapportant à ces deux types. Il est d'ailleurs facile de rattacher les autres formes soit aux granules, soit aux bâtonnets, d'où elles proviennent, au moins morphologiquement.

3° Les bacilles non acido-résistants

I. — MORPHOLOGIE. — PROPRIÉTÉS TINCTORIALES. — STRUCTURE

En général, ces bacilles sont de même taille que le bacille de Koch ordinaire. Vaudremer, cependant, en signale de dimensions légèrement plus grandes, le plus souvent ils sont allongés, à bouts arrondis, irréguliers, parfois ils s'assemblent en chapelets.

Auclair, examinant une culture en goutte pendante, observe que ces bacilles présentent des mouvements rapides, dus à des cils enchevêtrés. Ferran fait la même constatation.

On peut aussi en rapprocher les bâtonnets décrits par Calmette, comme présentant des cils à chaque extrémité, observés par lui dans les très jeunes cultures, qui seraient à rapprocher des bâtonnets décrits par S. Arloing dans ses cultures liquides homogènes.

Masur, au contraire, déclare qu'ils sont immobiles.

Reenstierna décrit un aspect particulier : aspect diphtéroïde.

Pour ce qui est de leur coloration, les opinions divergent.

Pour Ferran, certains prennent facilement les couleurs d'aniline, d'autres se laissent décolorer. Les premiers proviendraient des crachats, les autres des tissus pulmonaires.

Quant à la coloration par le Gram, Ferran déclare qu'ils sont Gram négatifs. Cette opinion est en rapport avec ses théories sur l'origine colibacillaire du bacille tuberculeux.

Pour Vaudremer et Reenstierna, ils prendraient le Gram.

Auclair s'est attaché particulièrement à l'étude des réactions colorantes des bacilles de Koch. Pour cela, il les a transformés en bacilles homogènes.

Il a observé qu'au moment de cette transformation le comportement du bacille tuberculeux vis-à-vis du Gram n'était pas stable et que, tantôt il reste coloré, tantôt il se décolore entièrement.

La perte de l'acido-résistance serait donc un indice de transformation du bacille de Koch qui passe à l'état saprophytique. Au moment où débute la transformation, Auclair traite sa préparation par le Ziehl, puis par le violet de gentiane, suivant une méthode analogue à celle que décrira Fontès, 8 années plus tard. Il observe alors des bacilles, les uns acido-résistants, les autres non acido-résistants. Ces derniers, ainsi que Much le remarquera dans ses observations ultérieures, sont souvent assemblés en chaînettes.

Chose curieuse, certains sont colorés mi-partie en rose, mi-partie en violet.

Auclair attribue cette coloration particulière à la perte de la capsule cireuse ou au manque d'épaisseur de celle-ci.

De plus, il remarqua que la perte de l'acido-résistance allait de pair avec l'affaiblissement de la virulence, fait déjà démontré par S. Arloing dans ses études sur les cultures du bacille dit homogène.

Les avis sont aussi partagés pour ce qui est de la structure de ces bacilles. Les uns prétendent que les irrégularités de constitution sont réelles, d'autres qu'elles sont dues à des réactions colorantes, différentes pour les diverses parties du corps du bacille.

D'après Klein leur structure est irrégulière, ils se présentent sous un aspect granuleux et ne contiennent pas les substances qui confèrent l'acido-résistance au bacille de Koch typique.

Pour Marmorek ils n'ont pas encore eu le temps d'élaborer les matières grasses de la capsule cireuse: ce sont des bacilles jeunes.

Vaudremer, Bataillon et Terre admettent que les bâtonnets ne retiennent pas également les matières colorantes sur toute leur étendue.

Reenstierna, de même, les décrit sous un aspect granuleux.

En définitive, leur structure est très mal connue.

Leur appellation même est sujette à changement. Masur les nomme bâtonnets bleus. Marmorek, se basant sur des données biologiques et évolutives, les décrit sous le terme de bacilles primitifs. Pour plus de

clarté, c'est ce vocable que nous adopterons, sans cependant vouloir, par le choix de cette dénomination, confirmer ou infirmer en quoi que ce soit la thèse de Marmorek.

II. — LES BACILLES PRIMITIFS DANS LES CULTURES

Est-il possible, dans une culture normale acido-résistante, en plein développement, de voir brusquement apparaître des bacilles non acido-résistants ?

Le fait est rare, mais on l'a constaté. Le plus souvent cette constatation est due au hasard. Tel est cependant le cas, cité par Wherry, de la souche 801 du Laboratoire de Koch, en partie composée de colonies non acido-résistantes et qui se conserva telle après 106 repiquages effectués tous les 3 mois.

Cette question de la perte ou mieux du retard de l'apparition de l'acido-résistance dans les cultures est actuellement fort bien connue et tous les auteurs s'accordent à reconnaître la présence à peu près constante des bacilles primitifs dans les cultures jeunes.

Déjà en 1898, S. Arloing et Paul Courmont remarquent dans leurs cultures homogènes de première ou deuxième génération l'apparition de bacilles dont le degré d'acido-résistance était variable. Entre la 10^e et la 20^e génération, ils perdaient complètement l'acido-résistance mais la retrouvaient par le vieillissement.

Dans les cultures ordinaires, lorsqu'on ensemence du bacille de Koch en milieu liquide, l'écaille déposée à la surface du bouillon prend l'aspect d'un voile

mince, transparent, léger. Plus tard, ce voile devient verruqueux, s'épaissit et prend l'aspect du voile classique connu de tous.

On rencontre donc, dans le courant de l'évolution de ces cultures, deux sortes de voiles formés eux aussi de deux catégories de bacilles manifestant des réactions tinctoriales différentes.

Dans le stade jeune, les bacilles prennent bien les couleurs aqueuses, le bleu de méthylène par exemple, avec autant de netteté que les microbes banaux. Par contre, les bacilles contenus dans les portions vieilles du voile ne prennent que le Ziehl.

Fait étonnant, selon Marmorek, ces bacilles possèdent aussi l'acido-résistance, bien que Marmorek déclare que ces bacilles jeunes ne sont pas recouverts de la capsule ciro-graisseuse du bacille de Koch classique. D'ailleurs, Marmorek ajoute que, par la double coloration de Ziehl, un très petit nombre seulement reste coloré en rose vif, l'immense majorité se colorant en bleu. « A première vue, dit-il, on prendrait la préparation pour une culture impure, d'autant plus que les bacilles bleus présentent entre eux une cohésion beaucoup moins grande que les acido-résistants ».

Marmorek ensemença une partie de ces voiles jeunes dans un milieu neuf identique et vit se multiplier les colonies non acido-résistantes qui se développaient beaucoup plus rapidement. Mais, même dans ses cultures sélectionnées, on retrouve toujours des bacilles normaux colorés en rouge.

De même, Bezançon et Philbert signalent la pré-

sence de bacilles primitifs dans les voiles de cultures jeunes. Mais, ils disent y rencontrer surtout des granules comme nous le verrons plus loin.

En 1925, notre Maître M. le Professeur F. Arloing et le Docteur Malartre se sont demandés si, sur pomme de terre, les colonies jeunes de bacilles de Koch présentaient les mêmes stades non acido-résistants que sur le bouillon glycérimé.

Dans ce but ils firent sur pomme de terre des coupes en série qui furent traitées au Gram et au Ziehl. On observait alors, de la profondeur à la superficie, le milieu de culture, en l'espèce la pomme de terre, puis, une masse vitreuse cyanophile et enfin la culture, toujours en surface, ne pénétrant jamais à l'intérieur de la pomme de terre. Dans cette masse cyanophile, qui représente le substratum de la culture on ne rencontrait pas de bâtonnets. Puis la masse se différencie : il apparaît quelques grains rouges. Enfin, se séparent quelques bacilles dont le corps non acido-résistant présentait trois ou quatre grains acido-résistants.

Les bacilles classiques se rencontrent seulement en surface : ce sont les plus évolués. Mais ils ne sont jamais acido-résistants à un degré aussi élevé que ceux des crachats, par exemple. Cela tient, sans doute, au dégraissage des coupes par le Xylol, ce qui semblerait indiquer la nécessité de la capsule grasseuse, facteur de l'acido-résistance et indice du bacille évolué.

On le voit, tous les auteurs s'accordent à déclarer que c'est dans les cultures jeunes que l'on rencontre surtout des bacilles non acido-résistants. La présence

de bacilles primitifs dans les cultures adultes normales étant exceptionnelle.

Mais il y a lieu de se demander si la composition du milieu de culture n'aurait pas une influence sur la disparition de l'acido-résistance.

Cette influence est certainement très nette : si nous nous en rapportons à Vaudremer, l'un des auteurs qui s'est le plus occupé de la perte de l'acido-résistance, nous verrons qu'au cours de nombreuses expériences relatives aux variations morphologiques du bacille de Koch, il l'aensemencé sur divers milieux dans des conditions différentes. Il en est résulté que le bacille de la tuberculose peut perdre son acido-résistance quand il est soumis à l'action des agents chimiques et de certains végétaux inférieurs.

Sur les milieux usuels glycérinés le bacille de Koch pousse avec tous les caractères qu'on lui connaît.

Sur divers milieux privés de glycérine on aboutit à des bacilles ne prenant plus le Ziehl. Sur les milieux courants, bouillon Martin, par exemple, les formes ne sont que peu ou pas acido-résistantes. L'acido-résistance disparaît totalement sur des milieux pauvres tels que l'eau de pomme de terre. Repiquées, sur milieu glycériné, ces formes reprennent en 15 jours leur acido-résistance.

M. le Professeur F. Arloing et M. le Professeur Agrégé Dufourt poussèrent plus loin l'expérience quant à la pauvreté du milieu. Ils ensemencèrent leurs bacilles de Koch en eau ordinaire et en eau distillée. L'acclimatation s'obtint par repiquage successifs sur ces milieux pauvres et bientôt apparurent des

bacilles et même des cocci, tous non acido-résistants. Mais ils constatèrent que la propriété acido-résistante n'est pas entièrement conditionnée par la richesse du milieu de culture et que les souches, ne possédant pas l'acido-résistance ou l'ayant perdue par un artifice de culture, peuvent la récupérer même sur eau distillée.

En milieu anaérobie, Vaudremer obtient les mêmes formes de bacilles primitifs. Cependant, ceux qui poussent en surface sont moins longs que ceux qui poussent dans la profondeur.

L'acido-résistance est limitée à quelques granules disséminés sur le corps bacillaire. En profondeur, les bacilles la perdent plus rapidement et plus complètement et évoluent vers les formes granulaires filtrables. Dans les deux cas, on rencontre des granules libres non acido-résistants.

On trouve aussi, d'après Vaudremer, des bacilles primitifs dans les cultures faites sur un milieu déjàensemencé avec de l'*aspergillus fumigatus*. Vaudremer ensemence des bacilles de Koch sur un filtrat de liquide de Raulin sur lequel a déjà végété une souche d'*aspergillus*. Vers le huitième jour les colonies de bacilles tuberculeux tombent au fond du tube, s'agglomèrent et perdent l'acido-résistance.

Pour ce qui est de l'action des agents chimiques, Schnieder de Hambourg, sur 368 ensemencements en milieu de Petroff, observa 15 cas de colonies constituées par des bacilles non acido-résistants et se répartissant ainsi : 4 souches de bacilles humains, 1 souche de bacille bovin, 2 souches de B. C. G., 1 souche de

bacille aviaire. Ces colonies de consistance sirupeuse, blanchâtre et non transparentes, renfermaient seulement de très rares éléments acido-résistants, la majeure partie étant constituée par des bacilles primitifs et des granules.

Schnieder attribue ces faits à l'action antiseptique du violet de gentiane entrant dans la composition du milieu de Petroff et modifiant la croissance et l'évolution du bacille de Koch.

Le même auteur remarqua aussi que l'introduction de cardiazol ou de coramine dans les milieux de culture stimule la croissance du bacille tuberculeux et on voit alors apparaître des bacilles primitifs.

La saponine utilisée par les auteurs japonais (Arima et Hoyama) permet d'arriver aux mêmes résultats.

III. — LES BACILLES PRIMITIFS DANS LES PRODUITS TUBERCULEUX

Si les bacilles primitifs ont été étudiés et sont connus de façon parfaite dans les cultures, on remarque, et c'est ce qui a dirigé nos recherches dans ce sens, qu'il a été peu publié de travaux sur leur présence dans les produits tuberculeux. Mis à part, les importants travaux de Vaudremer sur le pus des abcès froids, la découverte de bacilles primitifs en pathologie humaine est le plus souvent, le fait du hasard.

Cependant, Treuholz s'est attaché d'une façon toute particulière à les rechercher dans les lésions de la tuberculose expérimentale du cobaye. Ses observa-

tions portent tout spécialement sur la rate du cobaye, dans laquelle les bacilles acido-résistants sont rarement rencontrés.

Il colora suivant la méthode de Much et fit sur ses cobayes les expériences suivantes :

Il les sacrifia deux mois après l'injection sous-cutanée de culture. Les ganglions, non caséux, montrent des bacilles par le Ziehl et par le Gram. Il semble que le Gram en montre une plus grande quantité ainsi que de très fins granules. Quant à la rate qui présentait un grand nombre de tubercules visibles à l'œil nu, les frottis ne révélèrent aucun bacille par la méthode de Ziehl et, après des recherches prolongées, le Gram ne décéla que très peu de bacilles et des granules. Des fragments de cette rate furent prélevés aseptiquement et mis à l'étuve pendant 4 jours. Les frottis montrèrent alors un grand nombre de bacilles tuberculeux, habituellement isolés, et bien colorés par le Ziehl. Sur d'autres frottis le Ziehl ne révéla rien, le Gram pas de bacilles et très peu de granules. Après séjour de 24 heures à l'étuve, encore rien par le Ziehl, mais les bacilles gramophiles apparaissaient dans les préparations et les granules avaient augmenté en nombre. C'est après 48 heures d'étuve qu'apparurent les premiers bacilles acido-résistants.

Des coupes de foie tuberculeux montrèrent des bacilles par le Ziehl et beaucoup plus par le Gram.

Ces recherches montrent clairement que le virus tuberculeux existe fréquemment sous des formes qui ne peuvent être colorées par nos méthodes usuelles

et qu'il est capable de se transformer rapidement en bacille acido-résistant colorable par le Ziehl.

Il est à peine possible que le grand nombre de bacilles trouvés après incubation de la rate puisse être mis sur le compte de la division rapide de ceux, très rares, présents dans le tissu. De plus, la rate, à l'étuve pendant trois semaines ne présentait pas un accroissement de bacilles marqué sur celle de 4 jours.

A côté de ces travaux il convient aussi de citer ceux, très importants, de Hollande et Mlle G. Crémieux qui ont étudié tout particulièrement le cycle évolutif du bacille de Koch. Ils l'ont trouvé, presque en entier, au sein de très rares cellules géantes. Ils emploient une méthode de coloration élective des divers stades évolutifs du bacille tuberculeux :

- a) Ziehl à chaud 5 min., ou à froid 24 heures.
- b) Acide azotique au tiers : 5 secondes.
- c) Laver à l'eau distillée.
- d) Violet de gentiane : 5 minutes.
- e) Laver rapidement et Gram : 5 minutes.
- f) Alcool absolu et alcool amylique à parties égales jusqu'à décoloration complète.
- g) Laver à l'alcool à 30° puis à l'eau distillée.
- h) Hémalun : 10 minutes.
- i) Orange G aqueux à 1 gr. 50 % : 1 heure.
- j) Fixer l'orange par l'acide phosphomolybdique à 0 gr. 50 % : 30 sec.
- k) Vert lumière aqueux : 20 secondes.

Sur des coupes débitées au 1/300^e de millimètre, ils observent :

- 1° Des grains colorés en violet noir périphériques

par rapport au centre de la cellule géante et ne pouvant être des centrosomes.

Ces grains s'assemblent exceptionnellement en diplocoques.

2° Plus rarement des filaments très peu colorés, renfermant un ou plusieurs de ces grains. Ces filaments sont, eux aussi, périphériques.

3° Des filaments rose pâle renfermant parfois un corpuscule de Much; ces filaments sont un terme de passage entre le stade précédent et le suivant.

4° Enfin au début de la nécrose de la cellule géante apparaissent les bacilles acido-résistants.

Ces auteurs considèrent la forme acido-résistante du bacille tuberculeux comme étant la forme durable du bacille de Koch et résultant de l'évolution d'un élément végétatif non acido-résistant.

Vaudremer rencontre les bacilles primitifs dans les infections tuberculeuses de virulence très faible en rapport, probablement, avec le fait que ce seraient des formes jeunes. C'est ainsi qu'on les trouve dans des crachats de tuberculeux curables.

Dans le pus des abcès froids, la moyenne des bacilles de Koch acido-résistants est de 1 à 2 pour cent champs. Il est nécessaire d'opérer sur des abcès froids fermés pour être à l'abri de toute contamination et association microbienne. On observe alors des myriades de granules colorés par le Gram et pas de formes bacillaires.

Vaudremer ensemece ce pus sur gélose au bouillon de pommes de terre et sur ce même bouillon. Il voit les granules devenir bacilles gros, trapus, granu-

leux et tous dépourvus d'acido-résistance. Il remarque aussi des formes en amas avec tractus cyano-philés de Bezançon et Philibert. Dix-huit jours après, apparition de granules acido-résistants, de bacilles moniliformes acido-résistants et, 3 mois après, il n'y a plus que des acido-résistants. En terminant, Vaudremer fait remarquer que toutes les formes granulaires ont disparu : ce n'étaient donc pas des impurétés.

Mis à part ces travaux importants qui nous renseignent sur la présence et l'évolution des bacilles primitifs au cours de l'infection tuberculeuse, la littérature contient encore quelques exemples de leur découverte dans les différents produits pathologiques.

C'est ainsi que Bezançon et Philibert trouvent, dans des coupes de tubercules granuliques, des bacilles ayant partiellement ou totalement perdu leur acido-résistance et colorés par le Gram.

Boas et Ditlevsen, recherchant le bacille de Koch dans le lupus, broient un fragment de tissu lupique et le mettent à l'étuve pendant 24 heures à 37° au sein d'une solution décimale d'antiformine. Ils centrifugent et colorent par la méthode de Much. Dans 13 cas de lupus, 3 fois seulement le Ziehl révéla des bacilles. Dans tous les cas, ils trouvèrent des granules et des bacilles gramophiles.

Enfin, nous citerons une observation de Juljan Zilz qui examine des kystes dentaires formés à la suite de périostite. Il ne trouve pas de bacilles acido-résistants dans la pulpe et cependant, celle-ci tuberculise le co-

baye. Mais il met en évidence par la méthode de Much des granules et des formes bacillaires. Pour détruire les éléments de la flore bactérienne autres que le bacille tuberculeux, la pulpe avait été, avant examen, traitée par l'antiformine.

L'auteur croit à une forme gramophile du bacille de Koch qui serait, pour lui, une forme latente.

D'une manière générale, nous résumerons toutes ces observations, en disant que, dans tous les produits pathologiques peuvent se rencontrer des bacilles que, seuls, révèle la méthode de Much.

On remarquera que les bacilles primitifs se trouvent d'après tous les auteurs précités, dans presque tous les cas, associés aux acido-résistants.

Dans nos observations personnelles nous ne les avons jamais rencontrés sans cette dernière forme.

D'après ces constatations on peut établir certaines phases du cycle évolutif du bacille de Koch ainsi que nous le verrons plus loin.

4° Les granules de Much

Souvent, dans les préparations traitées par le Ziehl, le bacille de Koch apparaît comme un chapelet de granulations séparées par des espaces clairs. Certaines peuvent se séparer et vivre isolément. Ces granules acido-résistants n'entrent pas dans le cadre de ce travail et, il est bien entendu que nous n'étudierons ici que les granulations non acido-résistantes ou « granula » de Much.

I. — MORPHOLOGIE

PROPRIÉTÉS TINCTORIALES. — STRUCTURE

Les divers aspects de granules rencontrés procèdent tous de la forme cocci.

Ces cocci, d'après Reenstierna, s'assemblent parfois en diplocoques et simulent le méningocoque par leur aspect en grains de café.

Deux granules peuvent s'accoler et donner la forme décrite par Stempa sous le nom de forme en biscuit.

Un gros granule allongé peut être accompagné d'un plus petit et donner une forme en point d'exclamation que nous-même avons souvent rencontrée.

Hollande signale une forme en haltère constituée par deux granules aux deux extrémités d'un filament.

Mais, le plus souvent, on rencontre des granulations coccoïdes isolées ou en amas de 3 ou 4 et d'aspect régulier.

Pour ce qui est de la taille de ces granules, Bezançon et Philibert les comparent aux cocci banaux de $1\ \mu$ de diamètre. En général, cependant, les granules sont inférieurs en diamètre aux streptocoques et staphylocoques. Ils ont le diamètre des granulations ordinairement observées sur le corps même du bacille de Koch.

Ces granules se colorent en général par la méthode de Gram ou de Much. Toutefois, certains auteurs les ont décrits comme des corps sphériques jaune-verdâtre et non colorables.

Hollande et Mlle G. Crémieux ont coloré facilement au bleu de Nil des granules libres en bleu foncé.

Vaudremer les colore très facilement par le Gram, les teintures d'aniline, la fuchsine à froid, le violet et le bleu.

Pour Hollande, leur structure serait homogène par la coloration vitale au bleu de Nil. Les mêmes constatations ont été faites par beaucoup d'auteurs sur des formes traitées par les méthodes bactériologiques ordinaires, mais Karwacki les décrit comme étant plus colorées à la périphérie avec un centre réfringent.

Babès pense qu'il peut subsister du protoplasme autour du corpuscule et Vaudremer décrit une capsule entourant quelques granules. Personne n'a signalé de membrane.

II. — LES GRANULES DE MUCH DANS LES CULTURES

Nous dirons peu de chose sur ce sujet. Il suffira, en effet, de rappeler que les granules accompagnent presque toujours les bacilles primitifs soit dans les cultures, soit dans les produits pathologiques.

Comme pour les bacilles primitifs, c'est dans les cultures jeunes qu'on trouve les granules de Much.

Ils ont été particulièrement étudiés par Bezançon et Philibert dans les voiles en surface sur bouillon glycérimé.

Sur ces voiles on remarque deux parties : la première en contact avec le bouillon, dans laquelle les bacilles de Koch acido-résistants sont nombreux, et une partie superficielle, plus jeune, dans laquelle les

bacilles font presque complètement défaut et sont surtout non acido-résistants. Les mêmes formes se retrouvent sur les parties du voile grimpant sur les parois du ballon où l'apport nutritif est difficile.

Après décoloration au Ziehl et par la méthode de Fontès, Bezançon et Philibert décrivent :

1° La substance cyanophile qui est la charpente du voile, disposée en travées prenant le bleu et où se disposent les bacilles.

2° Les corpuscules chromophiles (colorés par le Gram), se trouvant à l'intérieur des bacilles ou libres sur le trajet des filaments cyanophiles et criblant, en quelque sorte, la préparation.

Sur les voiles très jeunes on ne trouve que la substance cyanophile. Au bout de 16 à 25 jours apparaissent les corpuscules cyanophiles et, dans la profondeur, quelques bacilles acido-résistants. Sur les vieux voiles de 200 jours les acido-résistants ont disparu. La substance cyanophile est devenue très considérable et semble se résorber en grains chromophiles.

Parfois, le voile, trop lourd, tombe au fond du bouillon sauf certains points qui surnagent et donnent une nouvelle culture. Si l'on examine l'une de ces parcelles avec soin, on trouve un aspect en roue et à la périphérie, des amas cyanophiles, disposés d'une façon circulaire. De ces amas partent des filaments cyanophiles qui convergent les uns vers les autres. A leur point de réunion se trouvent les bacilles acido-résistants et sur le trajet des filaments on note de nombreux corpuscules.

Ces constatations démontreraient d'après Bezan-

çon et Philibert le développement du bacille de Koch aux dépens de la substance cyanophile et la forme acido-résistante ne serait qu'un aspect transitoire du bacille tuberculeux.

Vaudremer rencontra aussi les granules dans ses cultures sur eau de pommes de terre.

Grâce à un procédé particulier de microculture, Morton C. Kahn en a observés se séparant du bacille de Koch.

Karwacki les décèle, non plus dans des cultures jeunes, mais dans des cultures vieilles et desséchées.

Reenstierna, dans ses importants travaux sur le cycle évolutif du bacille de Koch, nota des formes granulaires d'un aspect particulier, en diplocoques et rappelant le méningocoque par leur disposition.

III. — LES GRANULES DE MUCH DANS LES PRODUITS TUBERCULEUX

Les granules sont souvent signalés dans des lésions de tuberculose spontanée ou expérimentale. Plusieurs auteurs insistent sur le fait que, dans beaucoup de cas où il est impossible de trouver des bacilles de Koch acido-résistants ou non acido-résistants, on arrive à mettre en évidence les granules.

Much, dans une expérience curieuse, injectait dans le péritoine d'un cobaye une culture virulente et une émulsion de cerveau qui, selon lui, aurait un pouvoir lytique sur le bacille de Koch. Il injecte aussi un témoin avec uniquement de la culture. Le liquide péritonéal, retiré d'heure en heure, contenait des ba-

cilles toujours acido-résistants chez le cobaye témoin. Dans l'autre, les acido-résistants devenaient de plus en plus rares et laissaient la place à des granulations strictement gramophiles qui s'assemblaient en chaînettes ou en amas.

Cette expérience, qui n'est pas à l'abri de la critique, n'a pu être répétée par plusieurs auteurs.

A côté de ces constatations, Much en fit d'analogues dans la tuberculose miliaire du veau.

Sur des préparations faites avec granulations miliaires, Much ne put arriver par le Ziehl à colorer des bacilles de Koch.

Il appliqua alors sa méthode et aperçut de nombreux bacilles gramophiles homogènes ou granuleux et à côté d'eux quantité de granulations gramophiles disposées en tétrades ou en chaînettes qu'il n'hésita pas à rattacher au bacille de Koch et à les considérer comme la forme vainement recherchée par Von Behring.

Cultivées ou inoculées ces granulations donnèrent naissance à des acido-résistants normaux.

Treuholtz fit les mêmes constatations sur les tubercules miliaires observés chez l'homme où il trouva des granulations en nombre considérable, mais pas de bacilles.

Après lui, Bezançon et Philibert, Stempa, dans les crachats; Vaudremer, dans les abcès froids; Hollande et Mlle G. Crémieux, dans les cellules géantes, retrouvent les mêmes granules.

Fontès, dans des ganglions de cobaye inoculés avec des filtrats, décèle ces granules et les considère com-

me issus des formes filtrables. Ceci fera l'objet d'un chapitre ultérieur.

Enfin, il est intéressant de citer les recherches de Lebedeff et Sagine sur les organes sains, en apparence, des tuberculeux pulmonaires.

Après trituration et digestion par l'antiformine de parcelles de rates saines en apparence, ces auteurs centrifugent sur culot et observent des éléments ressemblant aux granules de Much. Injecté au cobaye, le culot provoque la mort par tuberculose chronique atténuée.

Lebedeff et Sagine concluent que l'agent de la tuberculose pulmonaire circule dans les organes sains, mais modifie ses caractères morphologiques (transformation en granules de Much) et biologiques (ne provoquant pas la tuberculose locale) sous l'influence de l'immunisation des tissus. Dans des conditions favorables il y aurait transformation en bacilles de Koch et infestation des cobayes.

Bien que nous n'envisagions qu'à la fin de notre étude le cycle évolutif du bacille tuberculeux, on nous permettra de l'esquisser déjà d'après les multiples observations des auteurs que nous avons cités.

Il semble que tous ceux-ci s'accordent à considérer le bacille de Koch acido-résistant comme l'aboutissant de toute une série d'étapes non acido-résistantes et, selon l'expression de Reensternia, « à côté de la vie acido-résistante du bacille de Koch, il y a lieu de considérer une vie non acido-résistante pendant laquelle il passe souvent inaperçu et qui, cependant, n'est pas la moins importante ».

Il résulte de ces recherches que les granules non acido-résistantes, sans doute susceptibles de traverser les bougies filtrantes seraient à la base du cycle du bacille de Koch.

Par un mécanisme encore douteux, ils donneraient les bâtonnets gramophiles qui acquerraient enfin l'acido-résistance.

Le cycle inverse peut-il se produire ? C'est probable et, dans ce cas, granules et bâtonnets deviendraient des formes de résistance ou de dégénérescence.

Dans nos recherches personnelles nous avons envisagé à plusieurs reprises l'évolution du bacille de Koch, nous y reviendrons plus longuement.

CHAPITRE II

Observations personnelles

Etant donné le nombre considérable de publications sur les bacilles primitifs et les granules dans les cultures, nous nous sommes surtout attaché à déceler leur présence dans les produits tuberculeux.

L'idéal eut été que nous les recherchions dans toutes les formes de la tuberculose humaine. Un tel hasard ne s'est pas produit. Nous avons donc été dans l'obligation de nous en référer à l'examen des organes de nombreux cobayes inoculés de différentes manières. D'ailleurs, les résultats obtenus sont en concordance parfaite et entièrement superposables dans la tuberculose expérimentale et dans la tuberculose humaine.

1. — Méthodes de colorations employées

MÉTHODE DE MUCH. — Nous avons employé la technique décrite par Much dans ses ouvrages, violet de gentiane : 24-48 heures, Gram 24 heures, alcool-acétone.

Nous insistons sur la nécessité qu'il y a à employer des colorants parfaitement filtrés afin d'éviter, autant que possible, les dépôts de couleur. L'obligation d'obtenir une décoloration parfaite entraîne, de même, la nécessité de laisser les préparations 24 heures au moins dans l'alcool-acétone.

MÉTHODE DE FONTÈS. — Nous n'avons apporté aucune modification dans la technique de cette méthode que nous avons employée telle qu'elle a été décrite par l'auteur.

MÉTHODE DE C. BIOT. — Cette méthode consiste dans l'emploi du formol pour renforcer l'action de la fuchsine de Ziehl.

- a) Ziehl à 37° pendant 10 heures.
- b) Décoloration par l'acide azotique au tiers.
- c) Lavage à l'eau.
- d) Séjour de la lame pendant un quart d'heure dans le formol du commerce à 40 %.

On examine après séchage. Il est inutile de recolorer le fond. Cependant si l'on éprouve des difficultés de mise au point, on peut effectuer une coloration de fond à l'alcool picriqué.

Les bacilles apparaissent en violet noir, parfaitement visibles ainsi que les granulations.

LES RÉSULTATS DE CES MÉTHODES. — Nous avons obtenu des résultats à peu près constants.

La méthode de Much, dans quelques cas, a été un peu décevante et ne nous a montré alors rien de plus

que la coloration de Ziehl. Toutefois elle permet d'obtenir, en général, de très belles préparations pour les bacilles et les granules gramophiles. Ceci est surtout dû à la très forte imprégnation par le violet qui les fait apparaître en violet très foncé.

Il y a lieu cependant de prendre garde aux artefacts. On peut les éviter, dans la mesure du possible, par l'emploi de colorants filtrés et par un séjour d'au moins 24 heures dans l'alcool acétone.

Si la méthode de Fontès ne montre guère plus de bacilles que le Ziehl, probablement à cause de la courte durée de la coloration de Gram, en revanche, elle renseigne rapidement sur le degré d'acido-résistance des bacilles rencontrés.

Nous l'avons employée fréquemment. Elle nous a donné des résultats satisfaisants et toujours constants. Mais dans les cas où il est nécessaire de colorer des formes atypiques et entièrement gramophiles, nous croyons que la coloration de Much est préférable.

Il convient, en effet, de noter ici l'aspect différent des bacilles colorés par les méthodes de Fontès et de Much.

Les bacilles acido-résistants colorés au Fontès présentent un corps bacillaire rose, semé de granulations violet-noir.

Au contraire, les bacilles colorés par le Much se présentent sous deux aspects : soit entièrement violet-foncé, soit présentant une trame constituée par de fins tractus violets sur lesquels se détachent des granulations plus sombres : c'est ce que nous appelons

des bacilles entièrement gramophiles, par opposition à ceux qui ont encore un protoplasma acido-résistant et seulement quelques grains violets.

La coloration de Biot est une excellente coloration. Si elle ne révèle pas, à proprement parler, de bacilles non acido-résistants, elle confère une plus grande netteté à ceux dont l'acido-résistance est faible et qui, très faiblement colorés, passeraient inaperçus avec une coloration de Ziehl ordinaire. Le formol agit comme un renforçateur de la fuchsine phéniquée.

Nous avons examiné environ 500 préparations, coupes et frottis, provenant de diverses sources. Pour chacune d'elles nous faisons, parallèlement : un Ziehl à chaud — à froid sur les coupes — une coloration de Much, un Biot ou un Fontès, suivant les cas.

Les coupes ont été traitées par les colorations de Much et de Hollande, cette dernière dispensant de faire un Ziehl.

Les préparations ont été examinées avec un objectif à immersion 1/12° et un oculaire 15 x, soit à un grossissement de 1.425 fois.

Ce grossissement convient parfaitement pour l'examen des granules libres ou faisant partie du corps bacillaire.

Grâce à ces diverses méthodes, nous avons pu rencontrer toutes les formes décrites par les auteurs. Cependant, et peut-être est-ce dû à l'insuffisance de nos moyens d'investigation, nous n'avons pas rencontré les diplocoques en grains de café signalés par Reens-tierna.

II. — Les formes non acido-résistantes du bacille de la tuberculose

Afin d'éviter les redites, nous étudierons, à la fois, les bacilles et les granules. Nous les avons, en effet, rencontrés ensemble ou isolément dans les mêmes préparations.

MORPHOLOGIE. — Les bacilles procèdent, en général, de deux formes : soit le bacille granuleux, soit le bacille à constitution homogène.

Les premiers sont constitués par plusieurs filaments formant une sorte de trame gramophile sur laquelle se détachent 3 granulations ou plus, également gramophiles. A un faible grossissement (800 fois), ces bacilles apparaissent comme un chapelet de granulations, mais, au grossissement plus fort généralement employé (1.425 fois), leur constitution apparaît très nettement.

Quant aux bacilles de constitution homogène, le fort grossissement décèle qu'en réalité, le corps bacillaire est formé comme les précédents d'une trame gramophile mais beaucoup plus fortement colorée. Sur cette trame font saillie quelques granulations.

La dimension de ces bacilles nous est apparue comme légèrement supérieure à celle du bacille acido-résistant. Ils sont, en tout cas, plus trapus et les extrémités sont plus arrondies chez les bacilles gramophiles.

Les granules sont isolés ou groupés. Isolés, ils se présentent comme des cocci inférieurs en diamètre aux staphylocoques ou aux streptocoques. Leur aspect est celui d'un très petit coccus gardant très fortement le Gram, non réfringent et apparaissant très clairement sur le fond rose de la préparation.

Ces granules peuvent se grouper par deux pour former un diplocoque, ou par 3 ou 4. Parfois, les diplocoques sont irréguliers, un gros granule, allongé, semble se continuer par un autre, sphérique et plus petit. L'ensemble rappelle, de façon très nette, le point d'exclamation.

On les rencontre fréquemment aussi assemblés en chapelets.

Autour de ces granules, nous avons pu constater la présence d'une zone claire, non colorée, en imposant pour une capsule. Cette capsule est constante autour de chaque granule, elle entoure de même les chapelets et les diplocoques.

Nous signalerons une forme particulière, la forme haltère de Hollande, constituée par deux granules que réunit un filament.

La structure des granules et des bacilles nous est apparue comme homogène.

Les uns et les autres se colorent fort bien par le Gram et retiennent très fortement le violet. Dans une culture sur milieu de Petraghiani que nous avons eu l'occasion d'examiner au point de vue de la recherche du cycle évolutif du bacille de Koch, les granules et les bacilles, encore jeunes, ne gardaient pas le Gram, mais se coloraient par le bleu.

III. — Les bacilles et les granules dans la tuberculose expérimentale

Les recherches ont porté sur des cobayes inoculés avec des souches de tuberculose virulentes par les voies sous-cutanée, intra-péritonéale, intra-ganglionnaire et intra-cardiaque. Il en est résulté divers types anatomo-pathologiques de tuberculose que nous avons examinés au point de vue bactériologique. Ce sont les résultats de ces recherches que l'on va trouver ici.

Dans chaque cas de tuberculose généralisée nous avons examiné systématiquement, par frottis et par coupes : les poumons, le foie, la rate et les ganglions.

Dans la tuberculose ulcéro-caséeuse, le plus fréquemment rencontrée, le Ziehl à chaud révélait, dans les poumons, des bacilles de Koch en général nombreux, parfois peu acido-résistants, granuleux et coexistants avec des granulations acido-résistantes isolées.

La coloration de Much en a révélé beaucoup plus, disposés en chaînettes, très gramophiles. A côté d'eux se voyaient des granulations non acido-résistantes en grand nombre, isolées ou en diplocoques. Des bacilles granuleux, rencontrés çà et là, représentaient probablement les bacilles acido-résistants dont les granulations avaient pris le Gram.

La coloration de Fontès semble bien en révéler davantage surtout dans les cas où l'acido-résistance des

bacilles trouvés par le Ziehl paraissaient faibles. Dans ces cas les uns se présentaient avec un protoplasma rose sur lequel tranchaient des granulations violettes, les autres étaient entièrement gram positif. On remarquait aussi des granules gramophiles isolés.

La coloration de Biot, surtout dans les cas où l'acido-résistance était d'un degré peu élevé, faisait apparaître les bacilles beaucoup plus nettement. Les uns, toutefois, restaient pâles, les autres, au contraire, apparaissaient en noir. Ces différences de coloration sont, sans doute, motivées par le degré inégal d'acido-résistance des bacilles rencontrés.

Dans le foie, les bacilles de Koch sont plus rares par la coloration au Ziehl que ceux que l'on trouve dans les frottis de poumon.

Au contraire, la coloration de Much révèle elle aussi peu de bacilles, mais il semble, toutefois, que dans certains cas les bacilles non acido-résistants soient en nombre plus grand que ceux révélés par le Ziehl. Dans tous les cas, le nombre de granules rencontrés est considérable.

Il nous a semblé que la coloration de Fontès effectuée sur ces mêmes frottis de foie décèle un nombre légèrement plus grand de bacilles que le Ziehl: les uns non acido-résistants, les autres acido-résistants avec granules gramophiles.

La rate, bien que fibro-caséeuse dans toute son étendue et considérablement augmentée de volume (9 cm. parfois) n'a toujours contenu que peu de bacilles acido-résistants.

Les bacilles sont aussi rares à la coloration de

Much. Par contre, les granules sont toujours très nombreux.

La coloration de Fontès ne révèle elle aussi que de très rares bacilles et, dans les frottis de rate, ne nous a jamais montré de formes franchement acido-résistantes.

Les ganglions que nous avons examinés étaient toujours fibro-caséux ou même fibreux.

Les bacilles révélés par la coloration de Ziehl étaient, en général, rares et d'aspect granuleux.

La coloration de Much, au contraire, les montrait nettement plus nombreux (4 pour 3 champs), granuleux eux aussi quelques-uns de constitution homogène et beaucoup de granulations isolées.

De même pour la coloration de Fontès.

Nous verrons plus loin ce qu'il faut penser de cette rareté des bacilles acido-résistants dans les ganglions et l'explication que nous donnons de la plus grande abondance des formes gramophiles.

Nous avons rencontré deux fois des cas de tuberculose miliaire : le premier était un cobaye inoculé sous la peau de la cuisse. Les poumons étaient d'aspect congestif, parsemés de nombreuses granulations miliaires confluentes. Le foie, très hypertrophié, contenait beaucoup de granulations. De même, la rate qui cependant était de grosseur normale.

Les ganglions surtout trachéo-bronchiques, étaient hypertrophiés et fibreux.

Dans les granulations grises du poumon nous n'avons pas vu de bacilles de Koch acido-résistants. Par contre, la coloration de Much, si elle n'a pas non

plus révélé de bâtonnets, a montré de très nombreux granules isolés en diplocoques et plusieurs formes en point d'exclamation.

La coloration de Fontès de même n'a pas montré de bacilles complètement acido-résistants, mais d'assez nombreux granules. Nous avons pu observer deux bacilles dont les extrémités se coloraient fortement par le Gram et dont le centre était très faiblement acido-résistant.

Pas de bacilles également dans le foie par la coloration de Ziehl.

Les colorations de Much et de Fontès ont donné lieu aux mêmes observations que dans les frottis de poumon.

Dans la rate et dans les ganglions les bacilles acido-résistants étaient très rares, filiformes, granuleux.

Par le Gram nous avons décelé quelques formes bacillaires, mais surtout un très grand nombre de granules régulièrement assemblés par 2 ou 3 ou souvent en amas.

Le second cas de tuberculose miliaire que nous avons rencontré représentait un type de granulie beaucoup plus caractéristique que le précédent.

Il s'agissait d'un cobaye inoculé par voie intra-cardiaque avec une culture de tuberculose Durand, très virulente, et qui amena la mort de l'animal en 15 jours. Les poumons et la rate étaient littéralement recouverts de granulations. On remarquait aussi un volumineux ganglion sous-hépatique. Ce sont ces trois organes que nous avons prélevés.

La coloration à la fuchsine phéniquée de Ziehl montrait environ 50 bacilles par champ dans les frottis de poumon.

Les bacilles étaient un peu moins nombreux par la coloration de Much, mais les granulations étaient en nombre beaucoup plus considérable que les formes bacillaires.

Un même frottis d'une de ces granulations pulmonaires a été traité successivement par les colorations de Ziehl et de Much, avec recoloration du fond par l'acide picrique.

Nous avons eu ainsi sur la même plaque les bacilles et les granules acido-résistants colorés par le Ziehl ainsi que les bacilles et les granules, ces derniers beaucoup plus nombreux, colorés par le Much. Nous avons ainsi pu nous rendre compte que ce n'étaient pas les mêmes bacilles qui se coloraient à la fois par le Ziehl et par le Gram.

Dans les frottis de rate, peu de bacilles au Ziehl et au Much, mais cette dernière coloration montre une infinité de granules. Nous avons obtenu les mêmes résultats dans les frottis de ganglion sous-hépatique.

Sur un cobaye inoculé par voie intra-péritonéale, nous avons observé un nombre considérable de granulations tuberculeuses de toute grosseur sur l'épiploon. Nous avons prélevé plusieurs de ces granulations, les unes de petit diamètre (1 m/m environ), les autres de diamètre plus considérable (4 à 5 m/m) et nous les avons écrasées entre deux lames de verre que nous avons examinées.

La coloration de Ziehl ne montrait pas de bacilles dans les petites granulations, mais révélait 4 bâtonnets pour 150 champs dans les grosses.

Par la coloration de Much, très peu de bacilles et une grande quantité de granulations.

Nous avons aussi examiné du caséum issu de ganglions de cobaye, dans lequel on trouve ordinairement assez peu de bacilles acido-résistants.

Dans nos observations, la proportion de ceux-ci était de 3 à 20 pour 100 champs.

La coloration de Much ne nous a montré, elle aussi, que peu de bacilles, irréguliers, formés d'une trame gramophile supportant plusieurs granulations. Les granules étaient en nombre assez considérable.

La coloration au formol de Biot a montré dans ces cas 60 à 70 bacilles pour 100 champs. Ceci confirmerait l'hypothèse selon laquelle le formol agirait comme renforçateur de l'acido-résistance.

Dans un liquide d'ascite de péritonite tuberculeuse du cobaye, le culot de centrifugation ne contenait pas de bacilles acido-résistants, mais nous avons pu y mettre en évidence par le Gram des granulations en assez grand nombre.

Nous avons aussi fait plusieurs examens de ganglions de rats inoculés avec la tuberculose. Ces animaux contractent très rarement cette affection. Ceux que nous avons examinés étaient parfaitement sains en apparence et les ganglions ne contenaient pas des bacilles acido-résistants, mais des granules assez nombreux (10 à 15 par champ) isolés ou en diplocoques et révélés par le Much.

Nous avons, enfin, examiné des reins de cobaye tuberculeux. Le cobaye, malgré l'inoculation de cultures virulentes, s'il fait, volontiers, des tubercules généralisées ne présente pas de lésions du rein et nous n'avons pas non plus trouvé dans les frottis, de bacilles acido-résistants, mais quelques granulations par la méthode de Much.

Les coupes que nous avons faites dans chacun des cas précités nous ont donné les mêmes résultats que les frottis. Cependant nous devons dire qu'il n'en a pas été de même par l'emploi de la coloration élective de Hollande. Avec cette méthode, nous n'avons rien obtenu de positif. Nous avons seulement vu les bacilles acido-résistants quand les pièces à couper en contenaient. Nous attribuons cet insuccès à notre manque de familiarisation avec cette coloration si délicate ou à la rareté des cellules géantes renfermant les formes décrites par M. et Mme Hollande, ce qui expliquerait que nous n'en ayons pas rencontrées.

Les coupes traitées par la coloration de Much, outre que cette méthode est infiniment plus commode, permettent d'observer les bacilles en meilleur état que dans les frottis probablement à cause du traumatisme de moindre importance qu'on leur fait subir. De ce fait, leur aspect est beaucoup plus homogène et l'on rencontre moins de bacilles granuleux ; par contre, la discrimination est difficile entre un granule et un bacille coupé transversalement par le rasoir.

Tels sont les résultats de nos observations dans les lésions de tuberculose expérimentale du cobaye.

Ceux que nous avons obtenus en matière de tuberculose humaine sont, on va le voir, absolument superposables.

IV. — Les bacilles et les granules dans la tuberculose humaine

C'est dans ce cas particulier que la recherche des bacilles primitifs et des granules pourrait prendre un intérêt capital pour déceler certaines tuberculoses qui ne se manifestent pas par la présence du bacille de Koch dans les produits pathologiques. Nous allons voir ce que l'on doit penser de pareille hypothèse et les résultats auxquels nous sommes arrivés.

Dans cet ordre de faits, le premier des produits à examiner était naturellement les crachats.

Nos observations ont porté sur d'assez nombreux échantillons. Comme il s'agissait de crachats de tuberculoses ouvertes, dans tous, nous avons trouvé des bacilles acido-résistants bien colorés en rose vif, granuleux, accompagnés de granulations acido-résistantes isolées.

La coloration de Much, faite parallèlement à celle de Ziehl, a révélé, dans certains cas, des formes bacillaires en plus grand nombre, quelquefois aussi, en nombre égal ou inférieur à celui des bacilles de Koch acido-résistants. Dans tous les cas, les granules étaient très abondants : coccoïdes, diplocoques, petits amas. Mais, et d'ailleurs, nous y reviendrons, il

est extrêmement délicat d'affirmer l'existence de granules vrais à cause de la flore associée.

Dans les quelques échantillons d'urine que nous avons examinés, les résultats ont été identiques les uns aux autres.

Ces urines provenaient de tuberculoses rénales, avec ou sans cystite. Recueillies aseptiquement à la sonde, elles étaient centrifugées et l'examen a porté sur le culot, qui montra des bacilles acido-résistants, lesquels étaient, dans un cas, assez nombreux. Cependant, jamais, nous n'avons vu de bacilles primitifs et nous ne pourrions affirmer la présence de granules.

Nous avons eu aussi entre les mains plusieurs échantillons de pus. Ces pus provenaient tous d'abcès froids pottiques fermés et avaient été recueillis aseptiquement à la seringue. Ceci permet d'éliminer toute contamination microbienne et tout danger d'erreur par suite de germes associés.

Le Ziehl ne nous a montré aucun bacille. Pas de bacilles non plus par la coloration de Much, mais des granulations qui, sans être aussi nombreuses que celles que dit avoir rencontrées Vaudremer, se comptaient à raison de 3 ou 4 par champ. Ces granules affectaient assez fréquemment la forme d'un diplocoque irrégulier en point d'exclamation.

Parmi les pièces recueillies à l'autopsie, nous avons fait porter nos examens sur plusieurs échantillons de poumons.

Ces poumons provenaient de tuberculoses ulcéro-caséuses avec grosses lésions. Dans tous les cas, les

bacilles acido-résistants étaient nombreux (30 à 50 par champ), granuleux, bien colorés. Les granules, à la coloration de Much, se révélaient comme étant en grand nombre isolés ou en amas. Par contre, les bacilles gramophiles étaient, dans quelques cas, moins nombreux (25 à 30 par champ) que les acido-résistants (30 à 50). Sur ces échantillons, la coloration de Biot, elle aussi, se montrait inférieure au Ziehl quant au nombre des bacilles révélés. Sur d'autres lames, la méthode de Much décela plus de bacilles que le Ziehl, le double parfois, beaucoup plus nets et bien mieux colorés que par la fuchsine phéniquée. Parallèlement, le Biot montrait aussi 50 bacilles pour 30 au Ziehl.

Nous avons souvent remarqué ce parallélisme entre la coloration au formol et le Gram. Les deux paraissent avoir un plein succès quand l'acido-résistance est faible et se montrent alors supérieurs au Ziehl.

Nous avons eu l'occasion de faire des examens sur une ulcération tuberculeuse du cæcum, survenue au cours d'une tuberculose iléo-cæcale.

Peu de bacilles au Ziehl, et les quelques-uns rencontrés étaient fins, granuleux, mal colorés. Peu de granules aussi par le Gram, le plus souvent isolés. Nous n'avons pu voir, malgré de longs examens, qu'une seule forme bacillaire gramophile.

Sur le cadavre d'une femme morte de tuberculose intestinale, nous avons prélevé plusieurs granulations qui siégeaient sur l'intestin grêle. Nous les avons broyées entre deux lames et examinées.

Malgré les examens prolongés et répétés sur toute

l'étendue de la lame nous n'avons pu déceler de bacilles acido-résistants. Par contre, par le Much, outre des granules nombreux, nous avons pu voir des formes bacillaires entièrement gramophiles qui, si elles étaient rares (4 pour 150 champs environ), étaient parfaitement caractérisées et se présentaient accouplées en L ou en V suivant l'aspect si souvent affecté par le bacille de Koch.

C'est là le seul cas, dans toutes nos observations, où la coloration de Much nous a révélé des bacilles, alors que le Ziehl s'était, sous ce rapport, montré négatif, du moins le croyons-nous, après nos examens.

A deux reprises, nous avons eu entre les mains des fragments de rate et de poumons provenant de sujets atteints de granulie.

Ces organes étaient littéralement farcis de granulations. Les fragments, prélevés après broyage et lavage à l'eau salée physiologique pour faire disparaître le sang, ont été soumis à une digestion artificielle par l'antiformine et le liquide a été centrifugé sur culot, après adjonction d'alcool à 60° pour en abaisser la densité.

Pas de bacilles acido-résistants décelables dans le culot, mais de très nombreux granules gramophiles se présentant sous tous les aspects, cocci, diplocoques, forme en biscuit de Stempa, etc... Pas de formes bacillaires.

Enfin, nous avons eu la curiosité d'examiner des organes apparemment sains de tuberculeux pulmonaires. Les observations ont porté sur du foie et de la rate. Dans un cas, d'ailleurs, la rate, en apparence

très saine, contenait des bacilles de Koch acido-résistants, au demeurant assez peu nombreux. Après broyage, digestion artificielle et centrifugation, nous avons pu, dans tous les cas où le Ziehl ne permettait pas de déceler des bacilles de Koch, noter la présence de granulations, presque constamment en diplocoques, mais aussi isolées, présentant bien l'aspect des granules de Much. Ces faits confirmeraient la thèse suivant laquelle le bacille de Koch se rencontrerait dans les organes sains de tuberculeux pulmonaires sous une forme atypique.

D'après ces quelques observations, on peut remarquer que les granules se rencontrent à l'exception de toute autre forme non acido-résistante dans les produits ne révélant pas de bacilles de Koch par le Ziehl. Les bacilles primitifs, au contraire, coexistent avec les acido-résistants et, naturellement, avec les granules.

En un mot, si l'on ne trouve pas des bacilles au Ziehl, il y a des chances pour que la coloration de Much ne révèle que des granules. Si le Ziehl montre des bacilles, le Much, probablement, en montrera aussi et, avec eux, des granules. Cette affirmation s'est montrée vraie dans tous nos examens, sauf en un cas, et ceci peut servir de base à la théorie de l'évolution des formes non acido-résistantes du bacille de la tuberculose. Nous allons, maintenant, étudier le développement de ces formes et le mode suivant lequel elles acquièrent ou perdent l'acido-résistance.

CHAPITRE III

Evolution des formes non acido-résistantes du bacille de la tuberculose Leur signification

Après avoir constaté l'existence des formes non acido-résistantes du bacille de la tuberculose, il était naturel que l'on se posât la question de leur évolution et de leur situation dans la vie du bacille.

C'est cette question que nous allons envisager dans cette partie de notre étude. Sur ce point aussi nous nous sommes livré à des recherches. Nous en ferons connaître le résultat, après avoir rappelé les travaux des auteurs qui se sont intéressés à cette étape non acido-résistante de la vie du bacille de Koch.

I. — Inoculation des filtrats de produits tuberculeux Apparition des formes privées d acido-résistance

Il nous semble logique de commencer par là notre étude, car on peut considérer l'élément filtrable comme la base du cycle évolutif du bacille de Koch,

la première manifestation de son existence, sinon tangible, du moins en tant qu'agent pathogène existant réellement.

En 1902, Wrede découvre des granulations amygdaliennes chez un nouveau-né de trois jours. Après autopsie, les mêmes granulations se retrouvent sur les poumons. Il les écrase, les colore, observe un bacille arrondi, en chaînettes prenant le Gram et non colorable du Ziehl. Par inoculation, il reproduit une tuberculose nodulaire. Ne soupçonnant pas les formes filtrables du bacille de Koch, il considère ces granulations comme des manifestations de pseudo-tuberculose, car il n'envisageait pas la possibilité du passage du virus tuberculeux à travers le placenta.

Il nous est permis de supposer qu'il se trouvait en présence de la première manifestation du virus tuberculeux filtrant.

Nous devons dire, qu'à notre connaissance, il a été rarement signalé des bacilles comme étant la première forme microbienne apparue après l'inoculation de filtrat. Mise à part une observation de Calmette et Valtis, qui trouvent des bacilles primitifs dans le ganglion inguinal de cobayes inoculés avec un filtrat d'urine 15 jours auparavant, le plus souvent on ne trouve que des granules.

Nous rappellerons brièvement les célèbres expériences de Fontès en 1910 qui furent le point de départ des recherches sur l'ultra-virus tuberculeux.

Après filtration du pus caséux du cobaye, cet auteur inocule une partie du filtrat sous la peau d'un cobaye et examine l'autre partie après centrifuga-

tion. Le Ziehl ne donne pas de résultat, mais le Gram révèle des granulations très fines. Les mêmes constatations furent faites dans le ganglion inguinal du cobaye inoculé et dans la rate.

Après inoculation de la rate à un second cobaye, Fontès constate l'apparition d'une tuberculose atypique, sans grosses lésions, mais avec présence, dans les organes de bacilles acido-résistants.

Fontès conclut alors à la filtrabilité des granules, premier aspect visible de l'ultra-virus tuberculeux.

Vaudremer filtrant ses cultures sur milieux pauvres (eau de pomme de terre) et riches en formes granulaires non acido-résistantes, cultive le filtrat à l'étuve à 38° et voit s'y développer en grand nombre des granulations gramophiles qu'il réensemence et qui poussent avec les mêmes caractères.

Hauduroy et Vaudremer ont obtenu les mêmes résultats en partant, cette fois, de cultures de bacilles de Koch en milieux normaux.

Vaudremer conclut, lui aussi, à la filtrabilité des granules de Much dont les plus fins traversent les bougies L 3 et le placenta et se transforment en acido-résistants.

R. Mellon et Jost, inoculant des cobayes avec des filtrats de produits riches en granulations, obtiennent des lésions tuberculeuses renfermant des granules de Much, mais ils prétendent que les mêmes lésions sont obtenues avec des filtrats de microbes du groupe paratyphique.

Plus récemment Calmette observe que le filtrat et les granulations donnent la même tuberculose atté-

nuée à marche lente, avec présence dans les ganglions de granules non acido-résistants. Il trouve, de même, après des recherches prolongées, ces mêmes granules dans l'organisme des fœtus nés de femmes ou de femelles tuberculeuses.

Il conclut, ainsi d'ailleurs que Morton C. Kahn, en disant que l'ultra-virus tuberculeux apparaît d'abord sous l'aspect de grains de poussière extrêmement té nus, puis de granules cocciformes dont certains donnent naissance à de fins bacilles ; quelques-uns de ces derniers, par l'acquisition de l'acido-résistance dont ils étaient précédemment privés, devenant de véritables bacilles de Koch.

RECHERCHES PERSONNELLES

Elles ont porté sur des inoculations de produits en général riches en granulations gramophiles. Les fil-trats ont été faits sur bougies Chamberland L 3 et l'examen du culot de centrifugation de ces filtrats s'est révélé exempt de bacilles acido-résistants, mais aussi de granulations.

La première série d'expériences a porté sur un lot de cobayes inoculés avec des filtrats de foie, de poumons, de rate et de ganglions. Certains de ces animaux furent inoculés dans les ganglions para-tranchéaux, de la région du cou, les autres dans le péritoine et sous la peau.

Ils furent sacrifiés trois semaines après l'injection. Ce n'est que dans les ganglions du cou qui avaient été inoculés que nous avons pu relever la présence

de granules gramophiles isolés ou en courtes chaînettes, à l'exclusion de toute forme bacillaire. Aucun élément de ce genre n'a pu être décelé dans l'organisme des autres cobayes et nous n'avons jamais constaté l'existence de bacilles acido-résistants.

La deuxième expérience a consisté dans l'inoculation intra-péritonéale de 2 cobayes avec 6 cc. de filtrat de caséum. Ces animaux furent sacrifiés trois semaines plus tard.

Aucun d'eux ne présentait de lésion macroscopique, mais simplement des ganglions lombaires légèrement hypertrophiés qui furent broyés et examinés.

Le premier de ces cobayes n'avait aucun bacille de Koch dans ses ganglions mais un nombre assez considérable de granulations très gramophiles, 8 à 10 dans certains champs, isolés ou en diplocoques.

Nous fîmes les mêmes constatations dans les ganglions du deuxième cobaye, mais les granules paraissaient plus allongés.

Nous avons, enfin, inoculé 3 cobayes avec du filtrat de foie broyé et émulsionné dans du liquide d'ascite. Trois semaines après nous les sacrifîâmes.

Le premier d'entre eux avait été inoculé dans les ganglions cervicaux. Ceux-ci à l'autopsie se sont révélés comme très augmentés de volume. Ils ne contenaient cependant pas de bacilles de Koch, mais quelques granules très fins, par deux ou par trois, et rappelant bien les granules de Much.

Une partie de ces ganglions fut inoculée à un cobaye. Celui-ci mourut à la suite d'une prise de sang

faite en vue d'une étude des réactions humorales vis-à-vis d'un antigène tuberculeux. Cette dernière fut positive.

Le deuxième et le troisième cobayes, inoculés dans le péritoine avec 6 cc. de filtrat, n'ont présenté aucune lésion. Les ganglions lombaires n'étaient pas hypertrophiés et ne contenaient aucun élément susceptible d'être rattaché au bacille de Koch. On inocula ces ganglions à un cobaye dont la réaction humorale fut négative, de même une intradermo-réaction à la tuberculose.

Il paraît donc établi que la granulation est le premier élément visible à partir de l'ultra-virus. Cependant il nous a semblé que ce n'est qu'au bout d'un certain temps et dans certaines conditions qu'apparaissent les granulations. Cela doit dépendre, sans doute, du mode d'inoculation et, peut-être aussi, de la richesse du produit inoculé en éléments filtrables.

II. — Evolution de ces granules

Ils tendent à régénérer par divers mécanismes le bacille de Koch type acido-résistant.

Mais, auparavant, il est nécessaire de savoir quelle est l'origine de ces granulations et par quel processus elles se sont formées à partir du bacille de Koch.

A peu près tous les auteurs pensent qu'elles résultent des éléments bacillaires. Fontès, Babès admettent que ces derniers perdent leur acido-résistance

sauf en certains points, d'où l'aspect de bacilles granuleux. Puis ces granulations se séparent et perdent, à leur tour, l'acido-résistance.

Ferran admet qu'à un moment donné, dans un milieu de culture, un bacille se trouverait mieux adapté à la vie dans ce milieu épuisé par ses ascendants et dans ce cas, par un phénomène de mutation brusque, analogue à ceux observés chez les plantes phanérogames, il perdrait l'acido-résistance, et deviendrait alors la bactérie qui serait ultérieurement susceptible de se transformer en granulations gramophiles.

Ces granulations, susceptibles de filtrer, végèteraient, tout en restant gramophiles et se répandraient dans un organisme encore résistant, jusqu'au jour où, se transformant en bacille de Koch, éclaterait une bacillose typique.

Comment se fait cette transformation ? Le mécanisme est différent selon les auteurs.

Vaudremer pense qu'elles se mettent bout à bout après avoir acquis l'acido-résistance et qu'ainsi elles se transforment en bacille de Koch.

Quant aux bacilles primitifs, qui n'interviendraient pas, pour cet auteur, dans le cycle de régénération du granule, ils subiraient, quand les conditions de végétation seraient favorables un amincissement, puis acquerraient l'acido-résistance.

Much admet un mécanisme légèrement différent. Après observation en goutte pendante il a vu les granules se transformer en bacilles primitifs.

Ceux-ci peuvent d'ailleurs végéter sous cette forme

et, selon Auclair, se multiplier par scissiparité, puis acquérir l'acido-résistance.

Telle est, aussi, la théorie de Reenstierna.

Cet auteur observe le développement d'un champignon du type oïdium non acido-résistant. Ce champignon se désagrège. Apparaissent alors des granules gramophiles, ayant l'aspect de diplocoques en grain de café, puis des bâtonnets diphtéroïdes. Au sein de ces derniers se montrent enfin des bâtonnets acido-résistants.

Sweany croit que certains granules donnent directement naissance à des bacilles de Koch. D'autres, au contraire, donneraient d'abord des bacilles primitifs.

Les bâtonnets gramophiles peuvent se cultiver, et ultérieurement, acquérir l'acido-résistance. Cependant, Auclair et Reenstierna ont eu des souches qu'ils n'ont jamais vues se transformer en bacilles de Koch type.

Il semble que cette question de l'évolution ait été clairement mise au point par les récents travaux de A. C. Hollande et de Mme Hollande. Ces auteurs déclarent que les formes de bacille tuberculeux, rencontrées dans les divers éléments cytologiques, les ont conduits à envisager l'évolution du bacille en 4 stades, dans les cellules géantes de l'animal infesté.

1^{er} stade : Simple granule gramophile, apte à se diviser et à prendre un aspect en diplocoque.

2^e stade : Les diplocoques s'écartent et donnent ainsi naissance à un filament très mince portant un granule basophile à chaque extrémité (forme haltère).

3^e stade : Le filament s'épaissit de plus en plus. Quelques granules acido-résistants font leur apparition.

4^e stade : La substance acido-résistance augmente, on arrive au stade définitif : le bacille de Koch.

Le temps d'évolution est variable et correspond peut-être au temps d'incubation de la maladie, qui varie en raison de la résistance de l'animal.

Nous-même avons examiné une culture de bacille tuberculeux dans les conditions suivantes :

Un de nos camarades, effectuant des travaux sur la bacillémie tuberculeuse, d'après la technique de Löwenstein, ensemença du sang sur milieu de Petraghani à l'asparagine. Les examens furent faits moins d'un mois après l'apparition de la première colonie, condition nécessaire, d'après Löwenstein, pour avoir des formes non acido-résistantes.

Le premier examen fut fait 12 jours après l'apparition de la première colonie. Au Ziehl, de nombreux bacilles étaient acido-résistants, mais ne résistaient pas à la décoloration prolongée. A côté de ces bacilles, beaucoup d'éléments cocciformes colorés en bleu, ainsi que des éléments bacillaires. Au sein de groupes compacts de bacilles colorés en bleu, apparaissent des bacilles acido-résistants.

Une coloration de Much ne révéla que très peu de bacilles et de granules gramophiles, la majeure partie se colorait en rose.

De même une coloration de Fontès nous révéla trois sortes d'éléments :

1° Des bacilles faiblement acido-résistants avec granules très gramophiles ;

2° Des bacilles Gram positif ayant gardé très fortement le violet ;

3° Des bacilles non acido-résistants, non gramophiles.

Le deuxième examen eut lieu 16 jours après l'apparition de la première colonie.

Les bacilles prennent le Ziehl en grand nombre et se colorent en rose, mais rares sont ceux qui résistent à la décoloration prolongée. Les éléments cyanophiles sont mieux individualisés.

Le Much et le Fontès permirent de constater que tous les bacilles étaient gramophiles. Les granules isolés étaient très rares.

Le vingtième jour, il fut fait un *troisième examen*.

Tous les bacilles prenaient le Ziehl et résistaient bien à la décoloration même prolongée, sauf certains qui se teintaient d'un rose plus pâle.

Peu de bacilles Gram positif de façon homogène, furent révélés par le Much, et le Fontès ne révéla plus que quelques granulations gramophiles sur des bacilles acido-résistants.

III. — Signification des formes non acido-résistantes du bacille de la tuberculose

Il nous semble qu'apparaît clairement, par ces constatations et celles des auteurs précités, l'évolution du bacille de la tuberculose. Nous allons voir

que, dans certains cas, le cycle inverse peut se produire, partant du bacille de Koch pour arriver à la granulation de Much.

Certains auteurs ne croient pas à l'existence des granules.

Nocard pense que ce sont des bacilles coupés perpendiculairement qui en imposent, dans les préparations histologiques, pour des formations granulaires. Cependant, après les travaux de M. et Mme Hollande, leur existence est nettement prouvée.

Il n'est pas définitivement admis que ce soient des formes reproductrices, mais, après, on peut considérer que ce sont des formes jeunes encore privées de la capsule ciro-graisseuse, qui succèdent à un premier ensemencement ou à une première inoculation du bacille de Koch, lequel se reproduit alors activement.

Voici l'expérience que nous avons faite après Kostyrko :

3 cobayes furent inoculés dans le péritoine avec 1 milligramme de culture de tuberculose Durand, très virulente et employée ici à dose massive.

On fit sur le premier une prise de sang 6 heures après l'inoculation. Ce sang hémolysé dans l'eau distillée et stérilisée fut centrifugé et on étala le culot, très peu important d'ailleurs.

Le Ziehl ne donna aucun résultat. Par contre, des granules isolés, réguliers, furent trouvés en grand nombre par le Much.

12 heures après l'inoculation on fit une prise de sang sur le deuxième cobaye.

Rien encore au Ziehl, et un peu moins de granules, semble-t-il, par la coloration de Much.

Nous avons enfin examiné le sang du troisième cobaye, 48 heures après l'injection de culture. Les bacilles acido-résistants ont fait leur apparition, rares encore (1 à 2 pour 100 champs), mais très nets.

Plus de granules au Much, mais quelques formes bacillaires. On voit donc que ce sont les granules qui apparaissent les premiers et qui se multiplient dans le sang, pour donner enfin des bacilles acido-résistants.

Mais il est des cas où l'on voit se produire le cycle inverse, les granules et les bacilles primitifs prennent alors la signification de formes de résistance, et il semble que ce soient les granules qui jouissent de cette propriété au plus haut degré.

Bezançon et Philibert les ont considérés avec Koch comme des spores, pas comparables cependant aux spores tétaniques, mais qui sont bien des éléments de résistance, subsistant après la mort du bacille de Koch, et repiquables.

Quoiqu'il en soit, il semble que, dans ces cas, le bacille de Koch perde son acido-résistance devienne bacille primitif, lequel, à son tour, se scinde en granules.

Nous avons été amené par le hasard à assister à ce processus. Un de nos amis, le Docteur Roques, faisant avec M. le Docteur Lucien Thévenot, des recherches sur la tuberculose rénale expérimentale du cobaye, a inclus dans le parenchyme rénal d'un cobaye une certaine quantité de culture. On pratiquait,

pour cela, une cavité dans le rein, au moyen d'un fil de platine chauffé au rouge. La cavité, après qu'on y eut déposé la culture, fut obstruée au collodion.

L'animal en expérience mourut le lendemain des suites opératoires. Par curiosité, nous examinâmes l'état de la culture qui, sans doute, était entrée en dégénérescence.

Un Ziehl nous montra les bacilles acido-résistants, mal colorés par la fuchsine, irréguliers, très granuleux.

Sur ce Ziehl nous avons fait un Much avec recoloration du fond par l'alcool picrique.

Aucun ou presque aucun des bacilles n'étaient entièrement acido-résistants et présentaient, dans ce cas, des granulations ou même de vastes plages violettes sur l'étendue du corps bacillaire. Nous les interprétâmes comme des bacilles perdant l'acido-résistance. A côté se voyaient des bacilles entièrement gramophiles, lesquels se scindaient enfin en granules gramophiles.

Nous croyons qu'une autre série d'observations démontrera l'hypothèse suivant laquelle les formes granulaires seraient les formes de résistance.

Nous avons souvent remarqué la rareté des bacilles de Koch dans les ganglions fibreux des coyabes tuberculeux. Ces ganglions, non caséux, sont encore des centres de phagocytose et de résistance cellulaire, et le bacille tuberculeux ne peut s'y développer librement.

Nous avons donc examiné systématiquement les ganglions fibreux de plus de 20 cobayes tuberculeux. Nous n'avons jamais trouvé plus de 1 à 2 bacilles acido-résistants pour 100 champs. Par contre, le nombre des granules était toujours considérable, et ces granules revêtaient les aspects les plus variés. Deux fois seulement nous avons vu des formes bacillaires.

La question paraît donc nettement établie et définie, les formes non acido-résistantes sont : ou des formes jeunes ou des formes de résistance, des « formes d'assaut » pour employer l'expression de Pla y Armengol.

CHAPITRE IV

Utilisations pratiques de ces constatations Critique de la méthode de Much

Cette question des formes non acido-résistantes du bacille de Koch n'a pas seulement un intérêt purement scientifique, elle a aussi un intérêt pratique. Elle cherche à résoudre une troublante énigme : lorsqu'on ne décèle pas des bacilles de Koch dans une lésion cliniquement tuberculeuse, est-ce parce que le bacille est en très petite quantité, ou bien parce qu'il se trouve sous un autre aspect que nous ne sommes pas habitués à reconnaître ? Nos méthodes sont-elles insuffisantes, ou les dimensions du virus ne le situent-elles pas en dehors des limites de la visibilité ?

On voit quel intérêt présenterait la découverte des granules de Much pour le dépistage des tuberculoses latentes. Malheureusement, cette recherche, comme nous allons le voir, n'est pas à l'abri de la critique.

Certains auteurs, comme Philibert, lui dénie toute utilité, et pensent qu'il suffit d'examiner longuement les produits pathologiques, le pus notamment, pour déceler le bacille de Koch. La méthode de

Much aurait tout de même l'avantage de procurer un résultat rapide.

Mais nous tenons à signaler à combien d'erreurs grossières elle peut prêter.

Tous les éléments gramophiles peuvent être colorés par elle. Cet inconvénient est maximum dans les crachats. On n'est protégé contre cette erreur que par la taille des granules, d'un diamètre moindre que les staphylocoques ou les streptocoques, et l'on ne doit pas ménager les précautions d'asepsie.

Un ennui plus grave vient, selon nous, de la longueur du temps, pendant lequel on est forcé de laisser agir le violet. Malgré l'emploi des colorants filtrés, il se produit des dépôts de grains infinitésimaux qui, révélés par le microscope, ont la taille des granules.

Pour notre part, il nous semble qu'une décoloration prolongée, élimine en grande partie les artefacts de colorations. De plus, nous n'avons considéré comme granules, que les grains rigoureusement sphériques ou les diplocoques non réfringents, et dont la mise au point est réalisée en même temps que celle du champ microscopique.

De cette façon, on réduit au minimum les chances d'erreur.

Quelles conclusions tirer de cette étude ?

Est-il nécessaire de faire suivre chaque Ziehl d'une coloration de Much ?

Dans ce cas, nous croyons ne point devoir donner une valeur diagnostique absolue à la coloration de

Much. Les conséquences thérapeutiques sont trop graves, et un Ziehl négatif avec, d'autre part, granules gramophiles, ne peut que nous inciter à suspecter la tuberculose.

Il est cependant intéressant de noter que les formes bacillaires et les granules dépourvus d'acido-résistance se montrent avec une plus grande fréquence que celles colorées au Ziehl.

L'existence de ces formes soulève, à nouveau, de graves problèmes en matière de contagion et de prophylaxie tuberculeuse.

De nombreux faits observés en clinique peuvent faire supposer que toute la contagion ne se limite pas à la forme acido-résistance de l'expectoration.

Cette base demeure cependant la plus solide pour le diagnostic, et l'avenir, seul, nous révélera si les formes acido-résistantes et filtrables doivent être pratiquement envisagées dans la lutte contre la tuberculose.

Conclusions

I. — Il existe des formes non acido-résistantes du bacille de la tuberculose. Ces formes non révélées par la méthode classique de Ziehl-Neelsen, se rencontrent dans des produits pathologiques, en apparence non bacillifères, qu'un premier examen microscopique pourrait faire considérer comme n'étant pas de nature tuberculeuse.

II. — On les met en évidence par différentes colorations : méthodes de Much, de Fontès, à côté desquelles on peut placer la méthode au formol de C. Biot.

III. — Le bacille de la tuberculose non acido-résistant peut se rencontrer sous les principaux aspects suivants : bâtonnets, bâtonnets granuleux, formes en haltère, en massue, granules isolés ou en amas, à l'exception toutefois de la forme spirillaire.

IV. — Le plus fréquemment on rencontre des granules et des bâtonnets. En général, les granules se trouvent dans les produits dépourvus de bacilles acido-résistants.

La forme bacille Gram positif, au contraire, co-existe toujours avec la forme normale acido-résistante et très souvent, aussi, avec les formes granulaires.

V. — Il résulte de ces faits que, vraisemblablement, les granules sont des formes de résistance du bacille de Koch qui, dans un milieu défavorable, ne pourrait conserver son acido-résistance.

Il semble aussi que lorsque les conditions biologiques s'y prêtent, ces granules donneraient naissance au bacille normal, en passant par le stade intermédiaire de bâtonnet gramophile. Elles seraient ainsi à la base du cycle évolutif du virus tuberculeux et se rattacheraient aux formes filtrables de cet ultra-virus.

VI. — Théoriquement, la recherche de ces granules serait d'un haut intérêt diagnostique pour le dépistage des tuberculoses dans les produits desquelles le bacille acido-résistant ne peut être mis en évidence. Mais, vu la difficulté de leur identification certaine par le microscope, seuls les bacilles gramophiles, plus facilement reconnaissables, sont caractéristiques. Leur constatation perd de son intérêt du fait qu'ils accompagnent toujours des bacilles acido-résistants.

<i>Vu :</i>	LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
LE DOYEN,	F. ARLOING.
JEAN LEPINE.	

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 5 Octobre 1932.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. LIRONDELLE.

Bibliographie

- ARLOING (F.). — Sur les colorations de Ziehl, Much et Spengler. Etude de la méthode à l'antiformine pour la recherche du bacille tuberculeux. (Congrès français de Médecine, 12^e session, Lyon 1911).
- ARLOING (F.), DUFOURT. — Essai de culture du bacille de Koch en eau ordinaire et en eau distillée. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 98, 1928, page 37).
- Les formes invisibles et filtrantes du bacille tuberculeux. (*Clinique et Laboratoire*, 20 juillet 1926, page 127).
- ARLOING (F.), DUFOURT et MALARTRE. — Caractères anatomiques et cliniques de la tuberculose expérimentale du cobaye provoquée par l'inoculation de formes filtrantes du virus tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 94, décembre 1925, page 46).
- ARLOING (F.), MALARTRE. — Aspect des coupes de culture du bacille de Koch sur pomme de terre. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 93, 1925, page 225).
- ARLOING (S.). — Variations morphologiques étendues observées sur les bacilles de la tuberculose humaine. (*Bull. de la Société des Sciences vétérinaires de Lyon*, 29 juin 1907).
- Variabilité du bacille de la tuberculose. (*Revue de la tuberculose*, t. 5, n° 1, février 1908).
- ARLOING (S.) et P. COURMONT. — Le séro-diagnostic de la tuberculose. (*Gazette des Hôpitaux*, t. 73, 1^{er} décembre 1900, p. 1467).

- AUCLAIR. — Les mutations du bacille tuberculeux humain. (*Arch. Méd. Exp.*, t. 15, page 479).
- BEZANÇON et PHILIBERT. — Les formes non acido-résistantes du bacille tuberculeux. (*C. R. de la IV^e Conf. de l'Union Internationale contre la Tuberculose*, Lausanne, 5-7 avril 1924, page 80).
- Le bacille acido-résistant n'est qu'une des formes du parasite de la tuberculose. (*Presse Méd.*, 9 janvier 1926).
- BEZANÇON et M.-P. WEILL. — Le bacille tuberculeux dans les liquides pleuraux. (*Ann. de Méd.*, t. 21, 1927, n° 4).
- BOAS et DITLEVSEN. — Le virus tuberculeux de Much dans le lupus vulgaire. (*Berlin, Klin. Woch.*, 14 nov. 1910, p. 2106 ; in *Bull. Institut Pasteur*, 1911, n° 5, p. 206).
- BONNEL. — Notions nouvelles sur le bacille de Koch (*Bull. de Biol. clinique*, avril 1927, n° 20).
- BOQUET et NÈGRE. — Propriétés biologiques des lipoïdes du bacille de Koch. (*Ann. de l'Institut Pasteur*, t. 37, septembre 1923, page 787).
- CALMETTE et VALTIS. — Le virus tuberculeux. Granulémie tuberculeuse et bacillose. (*Ann. de l'Institut Pasteur*, t. 44, 1930, page 629).
- CORNIL et BABÈS. — Les bactéries et leur rôle dans l'étiologie, l'anatomie et l'histologie pathologique.
- DELILLE (A.) et LÉVY-BRUHL. — Valeur comparée des colorations de Much et de Ziehl pour colorer le bacille tuberculeux. (*Bull. de la Société d'Etudes Scientifiques sur la Tuberculose*, 10 avril 1913).
- DUFOURT. — L'ultra-virus tuberculeux. (*L'Hôpital*, n° 218-219, juillet 1928, page 435).
- FERHAN. — Travaux récents sur le bacille de Koch. (*Thèse de Paris*, juillet 1928).

FERRAN. — Recherches sur la tuberculose et son bacille, nouvelle étiologie de cette maladie et solution pratique du problème de la vaccination anti-tuberculeuse. (*Rev. de Méd.*, 10 décembre 1901, 10 janvier 1902).

— Nouvelle découverte sur le bacille de Koch, sa transformation en saprophyte vulgaire et son rapprochement du genre coli. (*Centralblatt für Bakt.*, t. 22, page 483).

— Les mutations du bacille de Koch dans ses rapports avec la théorie de Mendel sur l'hérédité biologique. (*Monde Médical*, 1^{er} fév. 1929, n° 742, page 77).

FONTÉS. — Quelques considérations sur l'infection tuberculeuse et son virus. (*Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, t. 2, fasc. 1, page 141).

— Etudes sur la tuberculose. (*Id.*, t. 2, fasc. 2, page 186).

GONDET. — La tuberculose sans bacilles de Koch. (*Arch. de Méd. et de Pharm. Militaires*, 1927).

GORIS. — Composition chimique et minérale du bacille tuberculeux. (*Ann. de l'Institut Pasteur*, avril 1920).

HAUDUROY et VAUDREMER. — Recherches sur les formes filtrantes du bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 93, décembre 1924, page 22).

HOLLANDE et Mlle G. CRÉMIEUX — Endoparasitisme cellulaire du bacille de Koch. Les cellules géantes ne sont que des myélocytes. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 100, page 996).

HOLLANDE et Mme G. HOLLANDE. — Histogénèse et Cytologie du follicule tuberculeux. (*Arch. d'Anat. microscopiques*, t. 27, n° 2, 1931, p. 150).

KARWACKI. — Mutations du bacille de Koch dans le liquide des pleurésies tuberculeuses. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 90, 1926, n° 28).

- KEDROWSKY. — Variabilité des microbes acido-résistants. (*Rev. tuberc.*, oct. 1930, page 892).
- KLEIN. — Zur Geschichte der Pleomorphismus der Tuberkulose Erregers. (*Centralblatt für Bakt.*, 1892, page 905).
- KRUGER. — Isolement du bacille de Koch dans le lupus. (*Münch. Méd. Woch.*, 31 mai 1910; in *Bull. de l'Institut Pasteur*, 1908, page 661).
- KRYLOW. — De la signification et de la présence des granules de Much. (*Zeitch. für Hygien.*, t. 70, fasc. 1, 1911, page 135 ; in *Bull. Institut Pasteur*, 1912, page 265).
- LEBEDEFF et SAGINE. — Sur la morphologie des bacilles de Koch dans les organes sains en apparence des tuberculeux. (*Vrachtebnaia Gazeta*, 913, page 450; C. R. in *Revue de la Tuberculose*, 1913, t. 10, page 378).
- MALARTRE. — Quelques acquisitions récentes sur le bacille tuberculeux. (*Thèse de Lyon*, 1927).
- MARBAIS. — Les caractères du bacille de Koch modifié. (C. R. *Soc. de Biol.*, t. 96, 1926, 7 juillet).
- MARMANN. — Beitrag zur Gedeitung der Muchschen granulie in sputum tuberkulöser. (*Arch. für Hyg.*, t. 76, fasc. 6, page 245 ; in *Bull. Institut Pasteur*, page 935, 1912).
- MELLON (R.) et JOST. — Experiments on the filtrability of the granular phase of the tubercle bacilli. (*American Review of tuberculosis*, t. 19, mai 1929, pages 483 et 497).
- MORTON C. KAHN. — A developmental cycle of the tubercle bacillus as revealed by single cell studies. (*American Review of tuberculosis*, déc. 1928, t. 18, page 815, et décembre 1929, t. 20, page 150).

- MUCH. — Des formes de bacilles tuberculeux ne prenant pas le Ziehl. (*Berlin Klin. Woch.*, 6 avril 1908, in *Bull. de l'Institut Pasteur*, 1908, n° 16, page 728).
- Ueber die granulare nach Ziehl nicht färbbare form der tuberkulose virus. (*Centralblatt fur bakt.*, 1919, t. 42, page 73).
- NÈGRE, VALTIS et BOQUET. — Etude biologique des voiles de cultures jeunes. (*Ann. de l'Institut Pasteur*, t. 44, mars 1930, page 257).
- PARAF. — Etude biologique du liquide de péritonite allergique du cobaye tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 92, page 792, 1926).
- PHILIBERT. — Virulence du pus tuberculeux avant et après filtration. (*Revue de la Tuberculose*, t. 11, page 47).
- REENSTIERNA. — Sur la vie non acido-résistante du bacille de Koch. (*Ann. de l'Institut Pasteur de Tunis*, 1906, t. 15, page 309).
- ROMAN. — Le bacille tuberculeux. (*Thèse de Lyon*, 1930).
- SCHNIEDER. — Formes non acido-résistantes du bacille de Koch. (*Zeitschrift fur tuberkulose*, t. 58, 1930, page 247).
- SERGENT (E.). — Les horizons nouveaux de la phtisiologie. (*Presse Médicale*, 19 juillet 1928, t. 36, fasc. 2, page 897).
- STEMPA. — Variations du bacille de Koch dans les spécimens cliniques. (*American Review of tuberculosis*, 1930, t. 22, page 443).
- STRAUSS. — La tuberculose et son bacille.
- TREUHOLZ. — Forms of tubercle bacilli which cannot be coloured by Ziehl. Neelsen stain. (*Medical record*, t. 73, 1908, page 60).
- VALTIS. — Filtration du bacille de Koch à travers les bougies Chamberland L 2. (*Revue de la Tuberculose*, 1924, page 218).

- Filtration du bacille de Koch provenant d'un pus tuberculeux, à travers les bougies L 2. (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, t. 92, page 74).
- VAUDREMER. — Le bacille de Koch. (*Concours Médical*, 1924, n° 5 à n° 40).
- Un bacille de Koch humain, un bacille de Koch bovin, acido-résistants facultatifs. (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, t. 84, page 259).
- Le bacille tuberculeux. (Un vol., Presses Universitaires de France, 1927).
- Le bacille de la tuberculose. (*Paris Médical*, 5 janv. 1924, page 26).
- Formes filtrantes du bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 89, 1923, page 80).
- Pléomorphisme du bacille de Koch. (*La Médecine*, mai 1922, n° 8, page 692).
- WEILL. — Les granulations de Much. (*Rev. de la Tuberc.*, t. 10, décembre 1923, n° 6, page 412).
- WEILLER. — Etude comparative de 4 méthodes de coloration du bacille de Koch. (*Paris Médical*, 25 décembre 1926, n° 52).
- WREDE. — Ueber Pseudotuberkulose bacillus beim Menschen. (*Zieglers Beiträge für path. Anat.*, t. 33, 1902 ; *C. R. in Revue de la tuberculose*, avril 1903, page 87).
- ZILZ. — Die phtisiogenetische Bedeutung der Zahnwurzelzystem. (*Beitr. zur Klinik der Tuberkulose*, in *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1912, page 493).

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	9
INTRODUCTION	11
HISTORIQUE	15
<i>Chapitre Premier.</i> — Conditions d'observation des formes non acido-résistantes du bacille tuber- culeux	19
<i>Chapitre II.</i> — Observations personnelles	43
<i>Chapitre III.</i> — Evolution des formes non acido- résistantes du bacille de la tuberculose. Leur signification	61
<i>Chapitre IV.</i> — Utilisations pratiques de ces cons- tatations. Critiques de la méthode de Much... .	75
CONCLUSIONS	79
BIBLIOGRAPHIE	81



BOSC FRÈRES, M. & L. RIOU

00 00 IMPRIMEURS - ÉDITEURS 00 00

42, QUAI GAILLETON, 42 00

00 00 00 00 LYON 00 00 00 00



